

Aus dem Bereich Dermatologie und Venerologie

(Direktor: Prof. Dr. med. W. Tilgen)

Klinische Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität des Saarlandes, Homburg / Saar

***Bedeutung des 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegels für
Pathogenese und Progress des malignen Melanoms***

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der medizinischen Fakultät

der Universität des Saarlandes

2008

vorgelegt von:

Bernd Nürnberg

geboren am 22.02.1974 in Bonn

**Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität des Saarlandes am:**

**Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Humanmedizin der Universität des Saarlandes:**

Dekan:

Berichterstatter:

Meinen Eltern und meiner geliebten Frau Ute gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. ZUSAMMENFASSUNG.....	01
1.1 Deutsche Zusammenfassung.....	01
1.2 Englische Zusammenfassung (summary).....	02
EINLEITUNG UND LITERATURÜBERSICHT.....	03
2.1 Einführung.....	03
2.2 Vitamin-D: chemische Struktur.....	04
2.3 Metabolismus und Transport.....	05
2.4 Regulation der Biosynthese.....	08
2.5 Extrarenale, lokale Produktion von Vitamin D-Hormon.....	08
2.6 Genomische und nicht-genomische Wirkungen des Vitamin D-Hormons.....	10
2.7 Vitamin D-Rezeptor.....	10
2.8 Physiologische Funktionen des Vitamin D-Hormons.....	12
2.8.1 Funktionen des Vitamin D-Hormons im Darm.....	13
2.8.2 Funktionen des Vitamin D-Hormons in der Niere.....	14
2.8.3 Effekte des Vitamin D-Hormons am Knochen.....	15
2.9 Rolle des Vitamin D-Hormons in der Haut.....	16
2.10 Biologische Wirkungen des Vitamin D-Hormons in der Haut.....	18
2.10.1 Antiproliferative und prodiffferenzierende Wirkung auf Keratinozyten.....	18
2.10.2 Immunmodulierende Effekte in der Haut.....	20
2.10.3 Regulation der Apoptose von Keratinozyten.....	21
2.10.4 Antioxidative Wirkung von Vitamin D-Hormon.....	23
2.11 Einflußfaktoren auf den Vitamin-D-Status.....	23
2.11.1 UV-Strahlung.....	23
2.11.2 Saisonale Unterschiede.....	24
2.11.3 Umweltbedingungen.....	24
2.11.4 Hauttyp und Pigmentierungsgrad der Haut.....	25
2.11.5 Alter.....	26
2.11.6 Body mass index (BMI).....	26
2.11.7 Verwendung von Sonnenschutzmitteln.....	27
2.12 Vitamin D-Mangel.....	27
2.13 Orale Substitution mit Vitamin-D.....	30
2.14 Malignes Melanom.....	31
2.14.1 Epidemiologie.....	31
2.14.2 Ätiologie.....	32
2.14.3 Klinik und Histologie.....	33
2.14.4 Prognose und Stadieneinteilung.....	35
2.14.5 Karzinogenese.....	40
2.14.5.1 Modell der Multistrittkarzinogenese.....	40
2.14.5.2 Photokarzinogenese.....	41
2.14.6 Therapie.....	42
2.14.7 Rolle des Immunsystems beim malignen Melanom.....	43
2.15 Der Bogen von den Anfängen der Vitamin D-Forschung zur heutigen Bedeutung für eine Vielzahl von Malignomen.....	44
2.16 Fragestellung und Hypothese dieser Dissertation.....	47

3. MATERIAL UND METHODIK.....	50
3.1 Patientenkollektiv.....	50
3.2 Ethikkommission.....	50
3.3 Anamnese und Recherche der Krankheitsverläufe.....	52
3.4 Labor.....	53
3.5 Bestimmung der 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel.....	53
3.6 Statistische Methoden.....	54
3.7 Fragebogen für Melanompatienten und zur Sonnenlichtexposition.....	56
4. ERGEBNISSE.....	66
4.1 Übersicht und Charakteristika des Gesamtkollektives.....	66
4.2 Labor.....	67
4.3 Lichtfragebogen.....	88
5. DISKUSSION.....	100
6. LITERATURVERZEICHNIS.....	116
7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	137
8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	139
9. DANKSAGUNG.....	140
10. LEBENSLAUF.....	142

1. Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

In zahlreichen epidemiologischen- und Laborstudien wurde eine Bedeutung des Vitamin D-Status' für verschiedene Krebserkrankungen aufgezeigt. Diese Bedeutung basiert auf den regulierenden Eigenschaften, die das aktive Vitamin D-Hormon auf die Zellproliferation ausübt. Hypertrophes Zellwachstum, Invasivität, Angiogenese und Metastasierungspotential werden eingeschränkt, während Zelldifferenzierung und Apoptose induziert werden. Um eine mögliche Relevanz des Vitamin D-Status' für das maligne Melanom zu untersuchen, wurden im Rahmen der vorliegenden Studie die 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel von insgesamt 205 Melanom-Patienten verschiedener Tumorstadien bestimmt und mit einer Kontrollgruppe (n=141) verglichen. Die 25-Hydroxyvitamin D-Serumkonzentrationen der Melanom-Patienten als Gesamtheit unterschieden sich statistisch nicht signifikant von denen in der Kontrollgruppe. Aber es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten im Stadium IV und denen im Stadium I ($p=0,006$). Möglicherweise kommt es im Krankheitsverlauf zu einem Absinken der 25-Hydroxyvitamin D-Serumwerte. Aber diese Differenz lässt sich auch durch die veränderten Lebensumstände der Betroffenen im Stadium IV (weniger Sonnenexposition und konsequenter Sonnenschutz) erklären. Zudem stellten wir nur eine geringe Korrelation des 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegels mit der Tumordicke und dem Krankheitsverlauf (definiert als Zeitspanne zwischen Primärexzision des Tumors und der ersten Lymphknoten- bzw. Fernmetastasierung) fest. Darüber hinaus befragten wir 100 Studienteilnehmer zur individuellen Sonnenlichtexposition (Melanom-Patienten: n=58; Kontrollgruppe: n=42). Die 25-Hydroxyvitamin D-Serumkonzentrationen korrelierten deutlich und statistisch signifikant mit der Sonnenexposition der Probanden ($p=0,0001$); weitere erfragte Faktoren (Hauttyp, Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände, Gebrauch von Sonnenschutzprodukten) erbrachten keine signifikanten Unterschiede. Aus den erhobenen Daten resümieren wir, dass Melanom-Patienten im Stadium IV ein erhöhtes Risiko aufweisen, eine Vitamin D-Defizienz zu erwerben. Daher sollten Melanom-Patienten regelmäßig auf eine Vitamin D-Defizienz hin untersucht werden. Liegt eine solche vor, ist entweder eine orale Substitution oder gegebenenfalls auch eine Aufklärung über maßvolle, individuell angepasste Sonnenexposition angezeigt.

1.2 Englische Zusammenfassung (summary)

A large number of epidemiologic and laboratory studies elucidate the relevance of vitamin D-status for several types of cancers. These effects are based on cell growth regulating properties of the active vitamin D hormone: Cell growth, invasiveness, angiogenesis, and metastatic potential are reduced, while differentiation and apoptosis are increased. To prove the relevance of vitamin D-status in malignant melanoma the serum levels of 25-hydroxyvitamin D were analyzed among 205 patients with cutaneous malignant melanoma of different stages und compared with a control group (n=141).

The 25-hydroxyvitamin D serum levels of melanoma patients in large did not significantly differ from those in the control group. But there was a statistically significant difference between patients in stage I compared with those in stage IV ($p=0,006$). Probably the 25-hydroxyvitamin D serum levels decrease during the course of disease. But it is also plausible that those differences are due to changing habits according to sun exposure and use of sunscreens.

Moreover, the 25-hydroxyvitamin D values did not show a significant correlation with tumour thickness and parameters representing the course of disease, such as the period of time between first diagnosis and the beginning of lymphogenous metastatic (stadium III) and distant metastatic (stadium IV).

Additional information about the history of sun exposure of those patients were gained from a questionnaire (melanoma patients: n=58; control group: n=42). The 25-hydroxyvitamin D serum levels correlated in a statistically significant way with the sun exposure ($p=0,0001$); further factors of possible relevance (skin type, number of painful sunburns, use of sunscreens) did not show significant differences.

Our findings outlined above demonstrate that melanoma patients in stage IV are at higher risk to developing vitamin D deficiency. Vitamin D status therefore should be subsequently monitored in those patients. It should be treated, e.g. by giving vitamin D orally. Information about a responsible behaviour concerning sun exposure and use of sunscreens should be provided to each patient.

Einleitung und Literaturübersicht

2.1 Einführung

Die Bedeutung des Vitamin D-Status' für den Knochenstoffwechsel ist seit langer Zeit bekannt. Darüber hinaus gibt es zahlreiche andere Gesundheitsstörungen, für die ein zu niedriger Vitamin D-Status bedeutsam sein könnte. Dazu zählen u.a. Autoimmunerkrankungen (z.B. Multiple Sklerose) und verschiedenartige Krebserkrankungen (z.B. Colon-, Prostata- und Mammakarzinom).

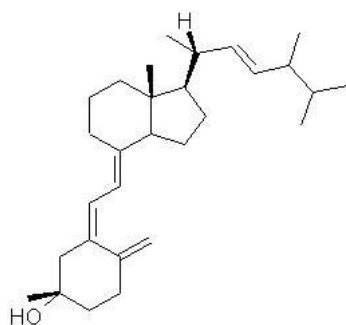
In der vorliegenden Studie soll die Bedeutung des 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegels (25(OH)D) für die Entstehung und den Krankheitsverlauf beim malignen Melanom untersucht werden.

Das maligne Melanom ist ein aggressiv wachsender Tumor, der von den pigmentbildenden Melanozyten ausgeht und für ca. 90% der Todesfälle durch Hautkrebs verantwortlich ist. Die Inzidenz des kutanen malignen Melanoms ist in den letzten Jahrzehnten weltweit gestiegen (Armstrong und Krickler, 1995; Garbe und Blum, 2001; Stang et al., 2000). Trotz intensiver Forschungsbemühungen ist der Wissensstand über die Faktoren, die die Melanomentstehung auslösen und begünstigen, nicht befriedigend. Etwa 10% der Melanome zeigen eine familiäre Häufung (Green et al., 1985a) mit der Disposition zur Ausbildung sog. dysplastischer Nävi. Weitere Risikofaktoren sind u.a. eine große Anzahl von Nävi und Sonnenbrände in der Kindheit. Als wichtigster exogen auslösender Faktor für die Melanomentstehung wird die UV-Exposition angesehen, insbesondere wenn eine kurzzeitige, intermittierende, intensive UV-Exposition gegeben ist (Gilchrest et al., 1999; Nelemans et al., 1993). Demgegenüber scheint eine chronische Exposition mit geringen UV-Dosen einer Melanomentstehung eher vorzubeugen. Man geht davon aus, dass diese Ergebnisse auf relativ hohen Vitamin D-Serumspiegeln beruhen, die durch UV-Exposition ausgelöst werden. Denn >90% des Vitamin D-Bedarfes wird in der Haut unter der Mitwirkung von Sonnenlicht gebildet. Eine Vitamin D-Defizienz kann durch zu geringe UV-Exposition oder konsequenten Sonnenschutz ausgelöst werden und zu vielfältigen Gesundheitsbeeinträchtigungen führen. So wurde z.B. eine Korrelation zwischen einer Vitamin D-Defizienz und Knochenkrankheiten, Autoimmunerkrankungen, Bluthochdruck und kardiovaskulären Erkrankungen in zahlreichen epidemiologischen- und Laborstudien nachgewiesen.

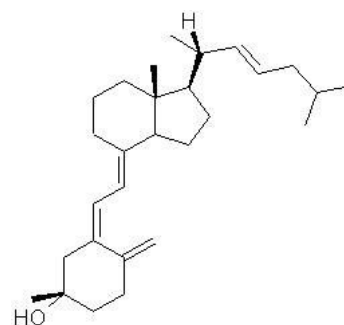
Zudem wurde auch eine Beziehung zwischen Vitamin D-Defizienz und dem vermehrtem Auftreten von verschiedenen Krebsleiden (u.a. Colon-, Prostata-, Mamma- und Ovarialkarzinomen) beschrieben (Gorham et al., 1990; Garland et al., 1989, 1991; Grant, 2002). Dass Sonnenexposition auch für Patienten, die bereits an einem malignen Melanom erkrankt sind, von Bedeutung sein könnte, haben Berwick et al. kürzlich in einer Fall-Kontrollstudie gezeigt. Sie berichteten eine inverse Beziehung zwischen dem Auftreten von Sonnenbränden, hoher intermittierender Sonnenexposition und solarer Elastose einerseits und dem Tod durch kutane Melanome andererseits (n=528). Sie folgerten daraus, dass Sonnenexposition beim malignen Melanom mit einer längeren Überlebenszeit assoziiert ist (Berwick et al., 2005). Die Bedeutung des Vitamin D-Spiegels für die Entstehung und den Krankheitsverlauf beim malignen Melanom ist somit vielschichtig und bedarf der weiteren Klärung.

2.2 Vitamin-D: chemische Struktur

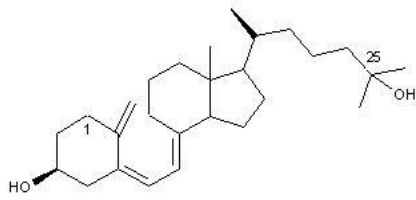
Biochemisch gehört das Vitamin-D oder Calciferol in die Gruppe der Secosteroide, die wiederum in ihrer chemischen Struktur den Steroiden ähneln. Die biologisch aktiven Metabolite der Calciferole werden aufgrund ihrer Steroidstruktur (charakteristische Vierringstruktur) und weiterer typischer Eigenschaften heute als Hormone bezeichnet: hierzu zählen die Fähigkeit zur Eigensynthese und deren endokrine Kontrolle, das Erreichen der Erfolgsorgane über den Blutweg und die Beeinflussung des dortigen Stoffwechsels bereits mit sehr geringen Konzentrationen, indem die spezifische Hormonwirkung über einen intrazellulären Hormonrezeptor vermittelt wird.



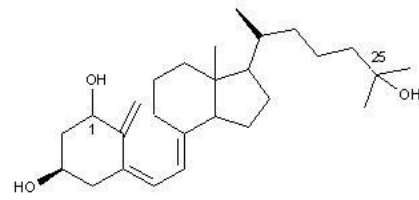
Vitamin D₂



Vitamin D₃



25(OH)D₃ (Calcidiol)



1,25(OH)₂D₃ (Calcitriol)

Abb. 1: Strukturformeln der wichtigsten Metaboliten des Vitamin D-Stoffwechsels
(University of Bristol/UK: www.bris.ac-uk/webprojects2002/schepp/vitamind.html)

Der wichtigste Vertreter der Calciferole ist das Cholecalciferol (Vitamin D₃), das selbst nicht biologisch aktiv ist und entweder nach oraler Aufnahme im Dünndarm resorbiert oder unter der Einwirkung von UV-Licht in der Haut synthetisiert wird (Holick et al., 1980; Milde, 1991; Bikle und Pillai, 1993). Vitamin D₃ und Vitamin D₂ (wird ausschließlich exogen über die Nahrung zugeführt) sind beim Säuger gleich aktiv und durchlaufen die gleichen Metabolisierungswege (Bayer et al., 1991).

2.3 Metabolismus und Transport

Ausgangspunkt der Vitamin D-Biosynthese ist 7-Dehydrocholesterol (7-DHC). Dieses wird in der Leber durch das Enzym Cholesteroldehydrogenase aus Cholesterol synthetisiert. Im Blutstrom gelangt 7-DHC, wegen seiner hydrophoben Eigenschaften vorwiegend an Transportproteine gebunden, in die Keratinozyten der Haut. 7-DHC ist ein ubiquitär vorkommender Bestandteil von Plasmamembranen und wird vornehmlich im Stratum basale und Stratum spinosum der Epidermis weiter metabolisiert (Holick et al., 1980). Hier findet unter dem Einfluß von UVB-Strahlung (Wellenlänge: 290 – 315 nm) die Synthese von Prävitamin D₃ (Cholecalciferol) statt. Als chromophores Molekül bildet 7-DHC zunächst unter dem Einfluß von Photoenergie Isomere am Sterangerüst. Es kommt zur Ringöffnung am B-Ring zwischen dem C9 und C10-Atom. Durch diese photochemische Isomerisation entsteht das rotationsstabile Prävitamin D (Windaus et al., 1936, Esvelt et al., 1978), welches in einem zweiten, temperaturabhängigen Schritt durch die Verschiebung der Doppelbindung zum stabilen Vitamin D isomerisiert. Es handelt sich um eine chemische Gleichgewichtsreaktion (Velluz und Amiard, 1949), d.h. es wird nur so lange Vitamin D gebildet, wie das Produkt aus der Zelle ausgeschleust wird. Der genaue Ausschleusungsmechanismus in den Extrazellularraum ist derzeit noch nicht im Detail bekannt. Es handelt sich aber um einen zügigen Vorgang, damit während

der gesamten Dauer der UV-Exposition Vitamin D nachgebildet werden kann. Dieser Faktor ist vor allem unter Bedingungen limitierter Sonneneinstrahlung (abhängig von der Jahreszeit, Tageszeit, Sonnenschutzmaßnahmen, geographischer Lage, Pigmentierung der Haut u.a.) bedeutsam (Webb et al., 1988; Matsuoka et al., 1992; Lu et al., 1992).

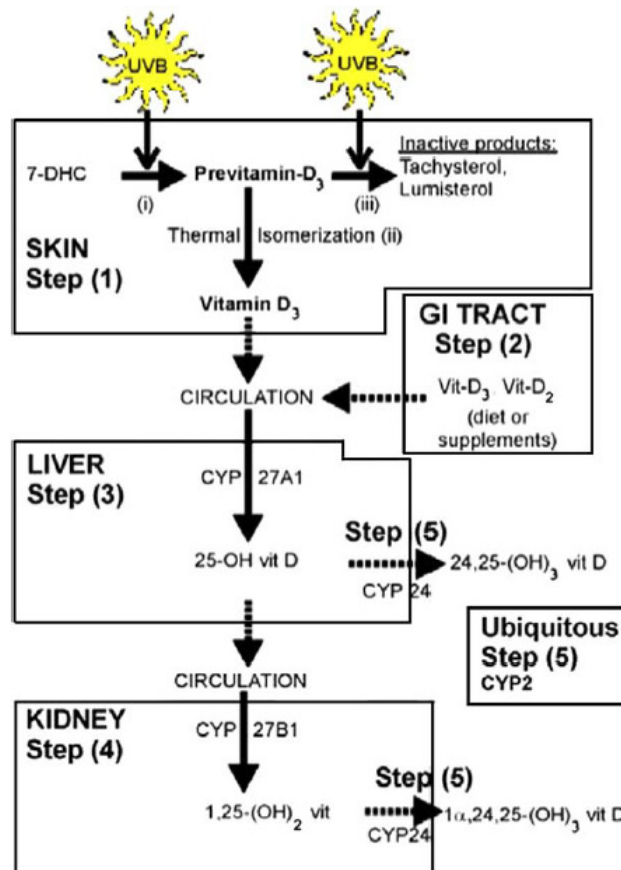


Abb. 2. Schematische Darstellung des Vitamin D-Metabolismus

(Modifiziert nach Wolpowitz W, Gilchrest WA (2006): The Vitamin D question: how much do you need and how should you get it? J. Am. Acad. Dermatol. 54(2): 301-17)

Step 1: In der Haut wird 7-Dehydrocholesterol (7-DHC) durch UVB-Strahlung in Prävitamin-D₃ umgebildet, das bei weiterer UVB-Bestrahlung in die biologisch inaktiven Produkte Tachysterol und Lumisterol konvertiert werden kann (zum Schutz vor einer Vitamin D-Intoxikation). In einem zweiten temperaturabhängigen Schritt wird durch Isomerisation Prävitamin-D₃ in Vitamin D₃ umgebildet, welches in den Blutkreislauf abgegeben wird.

Step 2: Vitamin D₃/D₂ kann auch über die Nahrung durch Absorption im Gastrointestinaltrakt aufgenommen werden und so in den Kreislauf gelangen.

Step 3: Vitamin D₃/D₂ wird gebunden an Vitamin D-Bindungsproteine in die Leber transportiert, wo durch die 25-Hydroxylase (CYP27A1) das biologisch inaktive 25(OH)Vit.D gebildet wird.

Step 4: 25(OH)Vit.D gelangt in die Niere und wird zu dem biologisch aktiven 1,25(OH)₂ Vit.D metabolisiert, katalysiert durch das Enzym 1α-Hydroxylase (CYP27B1).

Step 5: Schließlich werden beide Metaboliten durch die ubiquitäre 24-Hydroxylase (CYP24) in biologisch inaktive Produkte umgebildet.

Das in der Haut gebildete Vitamin D ist biologisch inaktiv und gelangt erneut über den Blutweg in die Leber, wo der erste Schritt der Aktivierung stattfindet. Aufgrund seiner hydrophoben Eigenschaften ist es vornehmlich an spezielle Vitamin D-Bindungsproteine gebunden, die in der Leber synthetisiert werden und im Plasma in hohem Überschuß frei vorliegen (Haddad, 1987 und 1992; Cooke und Haddad, 1989; Braun et al., 1992). Sie bestehen aus einer Gruppe mehrerer sehr ähnlicher Polypeptide (α -Globuline, ca. 58 kDa) und weisen eine hohe Bindungsaffinität für Vitamin D auf. Somit können sie das freie Vitamin D und seine Metaboliten im Blut fast vollständig „einfangen“. Es wird auch diskutiert, ob sie eine Funktion als Kurzspeicher für Vitamin D (Langzeitspeicher ist das Fettgewebe beim Säuger bzw. die Leber bei manchen Fischen) besitzen, wenngleich ihre Hauptfunktion unbestritten darin besteht, die hydrophoben Vitamin D-Metaboliten plasmagängig und damit an den Zielorten verfügbar zu machen.

In den Hepatozyten findet nun die erste Metabolisierungs-Stufe des Vitamin D auf dem Weg zur biologischen Aktivierung statt. Es kommt zur Hydroxylierung an der Position 25 des Moleküls unter dem Einfluß der 25-Hydroxylase. Eine Beteiligung weiterer, auch mikrosomaler Enzyme an dieser Reaktion wird diskutiert. Diese These konnte bisher aber noch nicht eindeutig nachgewiesen werden. Es entsteht das ebenfalls noch biologisch inaktive 25-Hydroxycholecalciferol ($25(\text{OH})\text{D}_3$). Dieser Schritt wird über einen Produkthemmungsmechanismus reguliert.

Nach dem Transfer in die Niere findet hier die entscheidende zweite Hydroxylierung an Position 1 zu 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ =Calcitriol) statt. Das katalysierende Enzym ist eine 1α -Hydroxylase, die ebenso wie die hepatische 25-Hydroxylase eine Cytochrom P450-abhängige, mitochondriale Monooxygenase darstellt (Andersson et al., 1989; Okuda et al., 1995). Die Regulation des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels erfolgt über zentrale Steuerungsmechanismen und verhindert so eine Überschussproduktion des biologisch aktiven Vitamin D_3 . Der Steuerungsfaktor ist die Syntheserate der für diese Hydroxylierung notwendigen 1α -Hydroxylase, die ihrerseits einer Regulation durch Parathormon (PTH), Serum-Phosphat und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unterliegt (Gray et al., 1972; Henry, 1979).

Wenn das Vitamin D-Hormon $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Überschuss vorliegt, wird in der Leber vermehrt der Metabolit $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebildet, der eine ca. 10.000-fach geringere biologische Aktivität als das Vitamin D-Hormon aufweist. Das beteiligte Enzym ist

wiederum eine Cytochrom P450-abhängige 24-Hydroxylase (Jones et al., 1987). Ob $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine eigenständige Funktion besitzt, wird diskutiert (Norman et al., 2002). Da der Metabolit selbst jedoch keiner strengen Regulation unterliegt, ist es unwahrscheinlich, dass er eine zentrale Bedeutung bei der Regulation der Kalziumhomöostase spielt (Jones et al., 1987).

Auch die erste und wichtigste Stufe der Inaktivierung von bereits gebildeten Vitamin-D-Hormons in den Zielzellen erfolgt wahrscheinlich über eine 24-Hydroxylierung (Lohnes und Jones, 1992). Es entsteht der Metabolit 1,24,25-Trihydroxycholecalciferol ($1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$), der eine ca. 5-fach geringere biologische Aktivität gegenüber $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ besitzt. Man geht davon aus, dass der Katabolismus des Vitamin D-Hormons nicht an ein Organsystem gebunden ist und vielmehr alle Vitamin D-Zielgewebe daran beteiligt sind. Nach multiplen Umwandlungen der Seitenketten wird schließlich die inaktive, wasserlösliche Calcitronsäure gebildet, die in der Leber in die Gallenflüssigkeit sezerniert wird (Jones, 1998).

2.4 Regulation der Biosynthese

Die Regulation der Vitamin D-Biosynthese erfolgt v.a. über das Parathormon, welches beim Absinken des Kalziumspiegels im Blut vermehrt von den Nebenschilddrüsen ausgeschüttet wird. Es stimuliert die Synthese der renalen 1α -Hydroxylase und hemmt die Synthese der 24-Hydroxylase. Gleichartige Prozesse scheinen sich auch im Rahmen einer Hypophosphatämie abzuspielen (Baxter und DeLuca, 1997; Wu et al., 1996), wobei der molekulare Mechanismus dieser Effekte noch nicht aufgeklärt ist. Wenn der Plasmakalziumspiegel ansteigt, kommt es durch die kalzämischen Effekte des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Darm und Niere zu einer negativen Rückkopplungsschleife.

Dieser Regulationsmechanismus wird vermutlich auch noch von anderen Faktoren beeinflusst. So scheint z.B. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ selbst in der Lage zu sein, die Synthese der 24-Hydroxylase zu stimulieren (Zierold et al., 1994; Ohyama et al., 1994).

2.5 Extrarenale, lokale Produktion von Vitamin D-Hormon

In den letzten Jahren gelang in vitro und in vivo der Nachweis, dass humane Keratinozyten über einen autonomen Vitamin D_3 -Stoffwechsel verfügen, der nicht nur

die seit langem bekannte UVB-induzierte Synthese von Vitamin D₃, sondern auch dessen weitere Metabolisierung zu hormonell aktivem Calcitriol beinhaltet. Er stellt substantielle Calcitriol-Mengen zur Verfügung und wurde nicht nur in vitro (HaCaT-Zelllinie) (Lehmann et al., 2000) und organspezifischen Keratinozytenkulturen (Lehmann et al., 2001), sondern auch in vivo mittels Mikrodialysetechnik in menschlicher Haut nachgewiesen (Lehmann et al., 2003). Aber auch andere Gewebe können unter bestimmten Bedingungen (Schwangerschaft, chronisches Nierenversagen, Sarkoidose, Tuberkulose, granulomatöse Erkrankungen, rheumatoide Arthritis) 1,25(OH)₂D₃ synthetisieren und so zu einer Erhöhung des Blutspiegels beitragen. Bei Gesunden spielt das extrarenal produzierte 1,25(OH)₂D₃ hauptsächlich für das Mikroenvironment eine wichtige Rolle, da die systemische Wirksamkeit zu gering ist.

Gewebe bzw. Zellen, in denen die 1 α -Hydroxylase nachgewiesen wurden, wo demnach eine Produktion von aktivem Vitamin D-Hormon denkbar und teils auch bereits nachgewiesen ist, sind Prostata, Brust, Colon, Lunge, β -Zellen des Pankreas, Monozyten und Zellen der Nebenschilddrüse (Hewison et al., 2004).

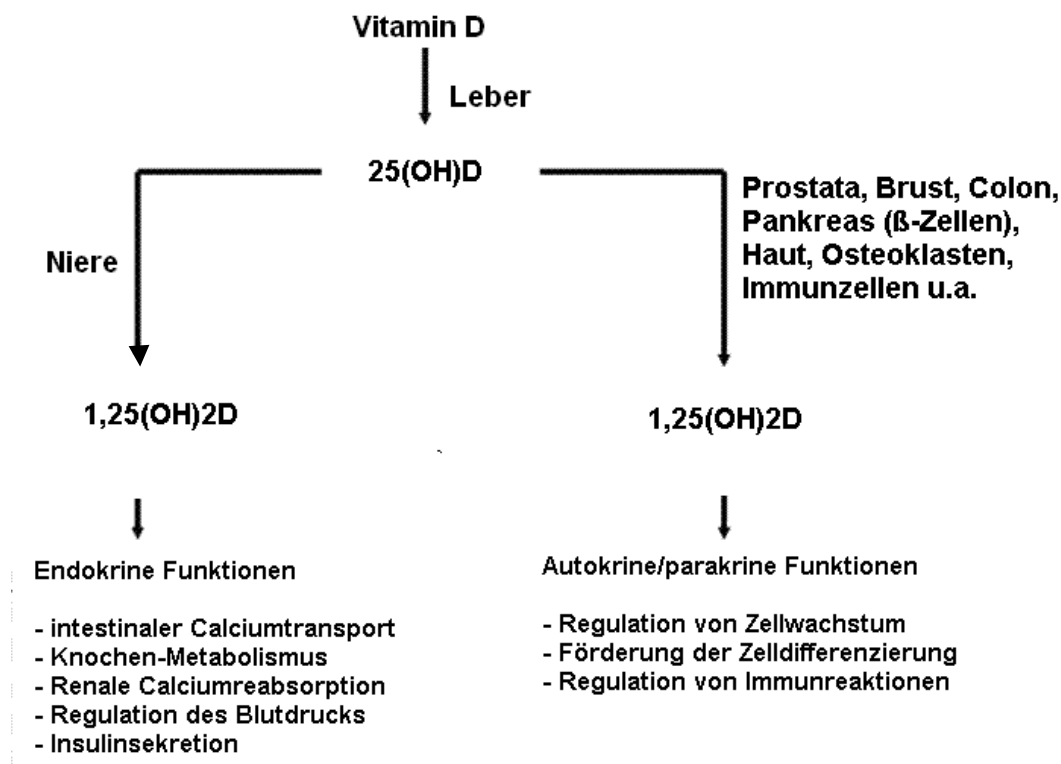


Abb. 3: Renale und extrarenale 1,25(OH)₂D₃-Produktion

(Modifiziert nach Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E (2005): Vitamin D. Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 289: 8-28)

2.6 Genomische und nicht-genomische Wirkungen des Vitamin D-Hormons

Man unterscheidet genomische Wirkungen des Vitamin D-Hormons von nicht-genomischen Effekten. In charakteristischer Weise für Steroidhormone werden die genomischen Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ über die Interaktion mit einem intrazellulären Rezeptor (Vitamin D-Rezeptor=VDR) entfaltet, der eine hohe Bindungsaffinität gegenüber $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ besitzt (Brumbaugh und Haussler, 1975). Hierbei entsprechen die Rezeptoren in ihrer Funktion liganden-aktivierbaren, regulatorischen Transkriptionsfaktoren. Neben diesem „genomischen Wirkprinzip“ hat man in verschiedenen Geweben auch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - abhängige Effekte beobachtet, die binnen Sekunden bis Minuten eintreten und somit nicht auf einem veränderten Proteinsynthesemuster der Zelle beruhen können. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind noch weitgehend ungeklärt. So wird beispielsweise die Bedeutung des klassischen, nukleären VDR oder von möglicherweise vorhandenen Membranrezeptoren für $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ beim Zustandekommen nicht-genomischer Effekte kontrovers diskutiert (Nemere et al., 1990; Norman, 1998; Norman et al., 2002; Erben et al., 2002; Boyan et al., 2002). Man vermutet, dass in unterschiedlichen Geweben verschiedene Varianten nicht-genomischer Effekte existieren. Solche „schnellen Effekte“ wurden z.B. in der Niere, in der Nebenschilddrüse, im Muskel, in Chondrozyten, in Fibroblasten, in Hepatozyten und in Keratinozyten sowie in Zellen des hämatopoetischen Systems und in Insulinomzellen nachgewiesen (Desai et al., 1986; Schwartz et al., 1988; Boudreau et al., 1990; Selles und Boland, 1991; Segrev und Rhoten, 1994). Diese Effekte bestehen meist in Veränderungen des intrazellulären Kalziumspiegels, des pH-Wertes sowie der Proteinkinase-C-Aktivität und beruhen auf der Induktion transmembranärer Signaltransduktionswege. Sie konnten inzwischen auch für andere Steroidhormone nachgewiesen werden (Duval et al., 1983).

2.7 Vitamin D-Rezeptor

Der intrazelluläre Rezeptor für Vitamin D-Hormon (VDR) gehört in die Familie der Kernrezeptoren. Man bezeichnet ihn als klassischen Hormonrezeptor, da er $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mit sehr hoher Affinität ($K_d = 0,1\text{nM}$) bindet (Sutton und McDonald, 2003). Das Gen des menschlichen VDRs liegt auf dem langen Arm von Chromosom

12 und umfaßt ca. 75 kb und 12 Exons (Szpirer et al., 1991). Der VDR wirkt selbst als Transkriptionsfaktor und vermittelt genomische Wirkungen unter Assoziation mit einem Rezeptor der Retinsäure-Rezeptor-Unterfamilie, dem sog. RXR. Der Proteinaufbau des VDR ähnelt demjenigen der Steroidhormonrezeptoren: unterschiedliche funktionelle Domänen sind kassettenartig in Proteinen angeordnet, u.a. je eine Domäne für die Hormonbindung und für die DNA-Bindung.

Die DNA-Bindungsstelle verfügt über charakteristische „Zinkfinger“, in deren Zentrum je ein Zink-Atom über mehrere Zysteinreste gebunden ist. Diese Zinkfinger auf der DNA-Seite korrespondieren mit sog. hormonresponsiven Elementen in den Promotoren von Zielgenen. Wenn nun Dimere aus zwei VDR-Molekülen (selten) oder Heterodimere aus einem VDR/RXR (häufig) an hormonresponsive Elemente binden, wird der RNA-Polymerase-Komplex und somit die Transkription beeinflusst. Es wird vermutet, das hierbei eine Reihe von Korepressor- und Koaktivator-Proteinen mitwirken. Man unterscheidet schnelle genomischen Wirkungen innerhalb von 1 Stunde von solchen, die sich in einem längeren Zeitraum von 6 Stunden und länger abspielen.

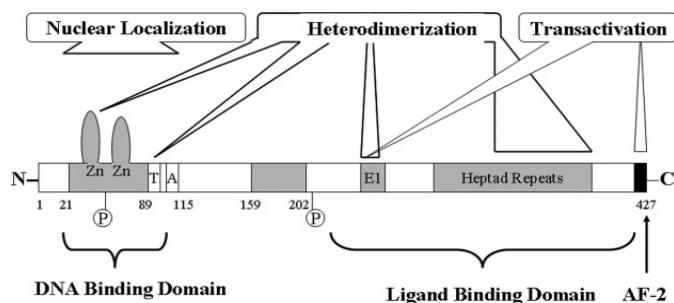


Abb. 4: Funktionale Domänen des VDR

(Dusso AS, Brown AJ, and Slatopolsky E (2005): Vitamin D. Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 289: 8-28)

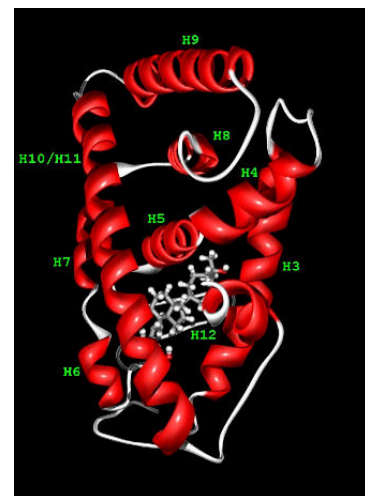


Abb. 5: Dreidimensionale Struktur des VDR

(Rotkiewicz P, Sisinka A, Kolinski A, DeLuca HF (2001): Model of three-dimensional structure of vitamin D receptor and its binding mechanism with 1-alpha,25-dihydroxvitamin D. Proteins 44: 188-199)

Neben den klassischen Zielgeweben des Vitamin D-Hormons (u.a. Darm, Nieren, Knochen) wird der VDR auch in vielen anderen Gewebe exprimiert (z.B. Haut, Brust, Hypophyse, Nebenschilddrüsen, β -Zellen der Pankreasinseln, Keimdrüsen, Gehirn, Skelettmuskel, zirkulierende Monozyten sowie aktivierte B- und T-Lymphozyten (Minghetti und Norman, 1988, Reichel et al., 1989a). Er wurde zudem nicht nur auf zellulärer Ebene im Zellkern, sondern in geringerem Ausmaß auch im Zytosol nachgewiesen (Reichel, 1996).

2.8 Physiologische Funktionen des Vitamin D-Hormons

Das Calcitriol wirkt sowohl intra- als auch extrarenal. Es wird überwiegend carriergebunden auf dem Blutweg zu anderen Vitamin D-Rezeptor (VDR)-positiven Zielorganen (v.a. Knochen, Dünndarm und Nebenschilddrüse) transportiert, um dort seine genomischen und/oder nicht genomischen Wirkungen zu entfalten (Haussler, 1986). Die wohl wichtigste Funktion des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Organismus ist die Aufrechterhaltung eines stabilen Plasma-Kalzium-Spiegels (bei Säugetieren ca. 2,5 mmol/l, 45% davon ionisiert) und die Regulation des Knochenstoffwechsels durch Bereitstellung von Kalzium für die Knochenmineralisation. Hierbei werden Funktionen des $1,25(\text{OH})_2$ -Vitamin D_3 , die unmittelbar den Kalziumstoffwechsel betreffen, als sog. „kalzämische Effekte“ bezeichnet. Von großer Bedeutung für dieses komplexe Regulationssystem sind vor allem der Dünndarm als Ort der enteralen Kalzium- und Phosphoradsorption, die Nieren als Ort der renalen Kalzium- und Phosphorexkretion bzw. Reabsorption sowie der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Biosynthese und die Nebenschilddrüse als Bildungsort des regulatorischen Parathormons (PTH).

Zwar besitzt das Knochengewebe die Fähigkeit, dem Organismus durch permanent möglichen Knochenabbau oder Knochenneusynthese einen flexiblen Kalziumspeicher zur Verfügung zu stellen; längerfristig benötigt es jedoch eine ausreichende Versorgung mit Kalzium und Phosphor, um stabile, belastbare Knochensubstanz zu bilden.

Darüber hinaus wird auch in zahlreichen anderen Geweben der Vitamin D-Rezeptor exprimiert, z.B. Herz, Magen, Pankreas, Gehirn, Haut, Gonaden, aktivierte T- und B-Lymphozyten (Holick, 2003). Es ist somit wahrscheinlich, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auch in diesen Geweben eine Vielzahl weiterer physiologischer Funktionen besitzt, die in

den letzten Jahren für die Forschung immer mehr an Bedeutung gewonnen haben und auch zukünftig im Fokus des wissenschaftlichen Interesses stehen werden.

2.8.1 Funktionen des Vitamin D-Hormons im Darm

Die Kalziumresorption im Darm wird nach derzeitigem Stand der Forschung durch zwei voneinander unabhängige Transportmechanismen gewährleistet. Ein sättigbarer, transzellulärer Mechanismus ist vor allem bei niedrigen Konzentrationen (bis 10 mM) im proximalen Teil des Dünndarms (Duodenum) von Bedeutung (Johnson und Kumar, 1994, Wassermann und Fullmer, 1995), wobei Kalziumionen lumenseitig am Bürstensaum der Enterozyten dem elektromechanischen Gradienten folgend resorbiert, transzellulär transportiert und an der basolateralen Zellmembran mit Hilfe eines energieverbrauchenden Prozesses gegen den Konzentrationsgradienten in die extrazelluläre Flüssigkeit der Lamina Propria abgegeben werden. Wahrscheinlich beeinflusst $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ alle Teilaspekte dieses transzellulären Kalzium-Adsorptions-Systems im Sinne einer gesteigerten Kalziumaufnahme.

Der zweite Mechanismus zur Kalziumresorption ist ein passiver, nicht sättigbarer, interzellulärer Vorgang, der bei Konzentrationen zwischen 10 mM und 50 mM im gesamten Dünndarm vonstatten geht (Johnson und Kumar, 1994; Wassermann und Fullmer, 1995).

Bei einem Vitamin D-Mangel wird Kalzium zwar am lumenseitigen Bürstensaum resorbiert, verbleibt dann jedoch an Calmodulin gebunden im Mikrovillibereich. Vermutlich kommt es nachfolgend zu einer Komplexbildung mit Myosin I (ATPase) und Actin (Bikle et al., 1989; Chandra et al., 1990; Kaune et al., 1994), woraus schließlich ein irreversibler Verschluß der Kalziumkanäle resultiert. Bei ausreichender Versorgung mit $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird das aufgenommene Kalzium hingegen schnell intrazellulär weitergeleitet, was wahrscheinlich das Offenbleiben der Kalziumkanäle sicherstellt. Bei Säugetieren erfolgt der Transport nach intrazellulär durch das Kalziumbindungsprotein Calbindin D9K, dessen Synthese durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induziert wird (Feher et al., 1992). Bei Kalziummangel wird im Organismus über eine gesteigerte Sekretion von Parathormon die Biosynthese von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induziert, was wiederum die enterale Kalziumaufnahme stimuliert. Die

Resorption von Phosphat erfolgt im Jejunum und Ileum. Auch sie kann durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ stimuliert werden, ist aber primär von der Phosphatkonzentration im Darmlumen abhängig (Lemann, 1993).

Neben den beschriebenen Mechanismen gibt es wahrscheinlich noch weitere Wege der Kalziumresorption, die möglicherweise nicht Vitamin D-abhängig sind. So wurde bereits 1984 unter dem Namen „transcaltachia“ ein Soforteffekt in Enterozyten beschrieben (Nemere et al., 1984; Nemere und Norman, 1986, 1987, 1990). Anhand von in vivo-Untersuchungen ließ sich belegen, dass es durch ladungsgesteuerte Kalziumkanäle binnen weniger Minuten (2-14 min) zu einer verstärkten Kalzium-Adsorption aus dem Darmlumen kommt, begleitet von einer Steigerung der Proteinkinase-C und Proteinkinase-A-Aktivität (de Boland und Norman, 1990). Zudem wurde gekoppelt an den Kalziumeinstrom innerhalb von 4–8 Minuten auch die Phosphorabsorption erhöht.

2.8.2 Funktionen des Vitamin D-Hormons in der Niere

Die Niere ist sowohl Syntheseort von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ als auch wichtigstes Regulativ der Kalzium- und Phosphatexkretion bzw. –reabsorption. Somit kommt der Niere eine zentrale Rolle bei der Regulation der Kalziumhomöostase zu. Das in den Primärharn abgegebene Kalzium wird in der Niere nahezu vollständig reabsorbiert (bis zu 98%). Hierbei scheinen allerdings die zugrunde liegenden Mechanismen und die beteiligten Faktoren nicht auf der gesamten Tubuluslänge einheitlich zu sein. Während nach dem heutigen Wissensstand im proximalen Tubulus vorwiegend passiver, parazellulärer Transport stattfindet (ca. 65% des filtrierte Kalzium-Loads), beobachtet man in der Henleschen Schleife aktiven und passiven Transport (ca. 20% des filtrierte Kalzium-Loads). Im distalen Tubulus, der Schlüsselstelle der Regulation, bzw. im Sammelrohr werden über ein aktives Transportsystem noch bis zu 10% des filtrierte Kalzium-Loads reabsorbiert (Yamamoto et al., 1984; Friedman und Gesek, 1995).

PTH und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sind vermutlich die wichtigsten endokrinen Faktoren der renalen Kalziumreabsorption (Friedman und Gesek, 1995). Noch nicht alle Mechanismen der renalen Kalzium- und Phosphat-Reabsorption sind im Detail geklärt. Man geht aber davon aus, dass PTH den aktiven Übertritt von Kalzium apikal

durch die Membran ermöglicht. Wahrscheinlich ist dieser Prozeß über eine Induktion der Synthese von PTH-Rezeptormolekülen durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gesteuert (Friedman und Gesek, 1993). Für den basolateralen Übertritt aus den Tubuluszellen in die Blutbahn werden verschiedene Transportsysteme vermutet. Hierbei wird der Plasmamembran-Kalziumpumpe (PMCA) eine große Bedeutung zugeschrieben (Friedman und Gesek, 1995). Auch die Fähigkeit von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, über eine Transkriptionsaktivierung die Syntheserate der beiden wichtigsten intrazellulären Kalziumbindungsproteine in der Niere (Calbindin D28K und Calbindin D9K) positiv zu beeinflussen, spielt vermutlich eine entscheidende Rolle bei der renalen Kalziumrückresorption (Bouhtiy et al., 1994; Koster et al., 1995; Liu et al., 1996). Calbindin D28K und Calbindin D9K unterscheiden sich wahrscheinlich sowohl hinsichtlich ihrer Struktur als auch in ihrer Funktion (Friedman und Gesek, 1995). Man vermutet, dass Calbindin D28K primär den apikalen Transport durch Kalziumkanäle stimuliert und vielleicht darüber hinaus als Carrier die transzelluläre Weiterleitung fördert, während Calbindin D9K wahrscheinlich hauptsächlich die basolaterale Ausschleusung über die ATP-abhängige Plasmamembran-Kalziumpumpe begünstigt.

Darüber hinaus liegt die Vermutung nahe, dass noch weitere, unentdeckte Effekte von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in der Niere existieren, da der Vitamin D-Rezeptor im gesamten Tubulusbereich, vom Glomerulum bis zum Sammelrohr exprimiert wird (Liu et al., 1996); so wird beispielsweise eine Hemmung des Phosphattransports im proximalen Tubulus diskutiert (Bonjour et al., 1977).

2.8.3 Effekte des Vitamin D-Hormons am Knochen

Die mineralische Knochensubstanz besitzt die Fähigkeit zum ständigen Auf- und Abbau von Knochengewebe (bone remodeling) im Sinne eines Fließgleichgewichtes von Resorption und Neusynthese. Das Knochengewebe stellt somit einen wichtigen Kalziumspeicher für den Organismus dar. Ob bei den Prozessen des Knochenturnovers neben PTH auch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine regulierende Rolle zukommt, ist noch nicht abschließend geklärt und wird kontrovers diskutiert.

Es konnte gezeigt werden, dass der Vitamin-D Rezeptor sowohl in Osteoblasten als auch in Osteoklasten-Vorläuferzellen exprimiert wird und dass viele osteoblastäre Matrixproteine (Osteocalcin, Osteopontin, Bone Sialoprotein und Kollagen Typ I)

durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reguliert werden (Boyan et al., 1992; Lian und Stein, 1993). Dies spricht für einen unmittelbaren knochenanabolen Effekt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Auch die Beeinflussung von resorptiven Prozessen durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - wie z.B. bei der Osteoklastenreifung - wird diskutiert. Zweifelsfrei nachgewiesen wurde, dass die hochdosierte pharmakologische Gabe von Vitamin D-Metaboliten eine direkte Stimulation der Knochenresorption induziert (Holtrop et al., 1981; Erben et al., 1997). Es ist allerdings unklar, ob dieser Effekt von physiologischer Bedeutung ist.

Untersuchungen der letzten Jahre konstatieren, dass die knochenprotektive Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in vivo vor allem seinen kalzämischen Effekten in Darm und Niere, also der Regulation des Plasmakalziumspiegels zuzuschreiben ist. Im Tiermodell war bei Mäusen mit intaktem Vitamin D-Rezeptor die Fütterung einer speziell mit Kalzium, Phosphat und Lactose angereicherten Diät ausreichend, um den Plasmakalziumspiegel und die Knochenmineralisierung zu normalisieren (Lie et al., 1998). Schon früher wurden ähnliche Ergebnisse bei Tierexperimenten mit Vitamin D-defizienten Ratten beschrieben. Durch Infusion mit Kalzium oder durch diätetische Maßnahmen ließ sich jeweils die Kalziumhomöostase normalisieren (Underwood und DeLuca, 1984; Kollenkirchen et al., 1991a; Kollenkirchen et al., 1991b). Es erscheint somit eher unwahrscheinlich, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine physiologisch relevante, direkte Funktion am Knochen besitzt.

2.9 Rolle des Vitamin D-Hormons in der Haut

Es ist seit langer Zeit bekannt, dass in der Haut unter dem Einfluß von UVB-Strahlung aus 7-DHC Prävitamin D_3 gebildet wird, das anschließend zu Vitamin D isomerisiert und über die Leber und Niere zum hormonell aktiven $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ umgebaut wird. Man ging zunächst davon aus, dass die Leber der wichtigste Ort für die 25-Hydroxylierung und die Niere der wichtigste Ort für die 1α -Hydroxylierung sei (Jones et al., 1998). Anhand von experimentellen und klinischen Studien wurde jedoch gezeigt, dass die über den Stoffwechselweg Leber-Niere produzierten Serumkonzentrationen von Calcitriol zu niedrig sind, um VDR-vermittelte hormonelle Effekte in der Haut auslösen zu können (Matsumoto et al., 1991; Prystowsky et al., 1996). Da die beiden wichtigsten Zelltypen der Haut (Keratinozyten und Fibroblasten) den Vitamin D-Rezeptor exprimieren (Milde et al., 1991; Holick et al., 1987; Feldman et al., 1980), sind die Grundvoraussetzung für die Regulation der genomischen Effekte durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oder Analoga prinzipiell erfüllt.

Es gelang zudem der Nachweis, dass die Haut als eines der Zielgewebe des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sowohl über die 1α -Hydroxylase als auch über die 25-Hydroxylase verfügt (Bikle et al., 1986). Zuvor glaubte man, dass die 25-Hydroxylase im Gegensatz zu der 1α -Hydroxylase in humanen Keratinozyten nicht exprimiert wird und folglich eine Umwandlung von Vitamin D_3 über $25(\text{OH})\text{D}_3$ zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nicht möglich sei (MacLaughlin et al., 1991). Dies ist aber sehr wohl der Fall und wird als autonomer Vitamin D_3 -Stoffwechsel der Keratinozyten bezeichnet. Er umfasst sowohl die UV-induzierte Synthese von Vitamin D_3 , als auch dessen weitere Metabolisierung zu aktivem Vitamin D-Hormon und hat entscheidend zum heutigen Verständnis des Vitamin D-Metabolismus beigetragen. Das auf diese Weise entstandene Calcitriol kann intrakrine und autokrine Wirkungen sowie parakrine Effekte in anderen benachbarten Zellen ausüben. Es kann somit auf die Regulation von Wachstum, Differenzierung, Apoptose und andere biologische Vorgänge Einfluß nehmen. In Keratinozyten sind eine Reihe von Genen bekannt, die durch Calcitriol reguliert werden. Der kutanen in vivo Metabolisierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird im Hinblick auf die Erzielung eines ausreichenden $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegels jedoch keine große Bedeutung zugeschrieben, da über die systemische Versorgung zu wenig ungebundenes $25(\text{OH})\text{D}_3$ in die Keratinozyten gelangt (Ishizuka, 1996; Bikle et al., 1994). Dennoch können Keratinozyten, denen $25(\text{OH})\text{D}_3$ zugeführt wurde, in vitro eine substantielle Menge $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ produzieren.

Nach heutigem Wissensstand ist die Haut somit das einzige menschliche Organ, das in der Lage ist, unabhängig die Synthese, Aktivierung und Deaktivierung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ durchzuführen, d.h. epidermale Keratinozyten sind sowohl Syntheseort als auch pharmakologische Zielzellen von Vitamin D (Schuessler et al., 2001).

Dermale Fibroblasten exprimieren zwar die 25-Hydroxylase, nicht aber die 1α -Hydroxylase. Ihnen wird daher eine wichtige Rolle bei der Bereitstellung von Vitamin-D Präkursoren (Vitamin D_3 und $25(\text{OH})\text{D}_3$) sowohl für Keratinozyten als auch systemisch via Blut zugeschrieben (Vatiegghem et al., 2003).

2.10 Biologische Wirkungen des Vitamin D-Hormons in der Haut

2.10.1 Antiproliferative und prodifferenzierende Wirkung auf Keratinozyten

Zu den wichtigsten biologischen Funktionen des Vitamin D-Hormons zählt die Fähigkeit, hypertrophes Zellwachstum zu regulieren (Holick, 2003c) und Zelldifferenzierung zu induzieren. Dies geschieht dosisabhängig: niedrig dosiert fördert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Proliferation von Keratinozyten in vitro, bei höheren pharmakologischen Dosen ($\geq 10^{-8}$ M) wird deren Proliferation gehemmt (Gniadecki, 1996). Die antiproliferative und Differenzierung induzierende Wirkung ist sowohl in gesunden Zellen, als auch in erkrankten bzw. Krebszellen zu beobachten, sofern sie einen Vitamin D-Rezeptor besitzen. So wurden beispielsweise in Läsionen psoriatischer Haut, die mit Vitamin D-Analoga behandelt wurden, immunhistochemische und molekularbiologische Untersuchungen vorgenommen, die ausgeprägte antiproliferative und Differenzierung induzierende Effekte auf Keratinozyten nachgewiesen haben (Reichrath et al., 1997a; Reichrath et al. 1997b). Hierbei kam es in situ unter topischer Behandlung mit Vitamin D-Analoga zu einer Normalisierung des immunhistochemischen Musters für zahlreiche Marker der epidermalen Proliferation (u.a. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Ki-67-Antigen) und Differenzierung (u.a. Involukrin, Transglutaminase K, Filaggrin, Zytokeratin 19) (Reichrath J et al., 1997a; Reichrath et al. 1997b).

Welche Mechanismen dieser antiproliferativen und Differenzierung induzierenden Wirkung von Vitamin D-Analoga auf Keratinozyten zugrunde liegen, ist noch nicht vollständig geklärt. Man vermutet allerdings, dass sie überwiegend auf VDR-vermittelten, genomischen Wirkungen beruhen. Dafür spricht, dass Keratinozyten von VDR-defizienten Mäusen in vitro nicht auf die antiproliferativen Effekte von Calcitriol ansprechen. Ferner konnte in läsionaler psoriatischer Haut gezeigt werden, dass die klinische Verbesserung unter topischer Behandlung mit Vitamin D-Analoga mit einem Anstieg der VDR-mRNA im behandelten Gewebe korreliert (Holick and Reichrath, 1999a). Nicht alle Psoriatiker sprechen zudem auf eine Therapie mit Vitamin D-Analoga an. Bei den sog. „Respondern“ konnte verglichen mit den „Nonrespondern“ ein Anstieg der VDR-mRNA im behandelten Hautareal nachgewiesen werden (Holick and Reichrath, 1999a).

Auch die Bedeutung der VDR-Genotypen für die Psoriasis ist bislang nicht eindeutig geklärt. In mehreren Studien wird eine Korrelation zwischen bestimmten VDR-Genotypen und dem Auftreten von psoriatischen Hautveränderungen bzw. dem guten Ansprechen auf eine topische Behandlung mit Vitamin D-Analoga postuliert (Holick and Reichrath, 1999). Man vermutet daher, dass die Fähigkeit von Calcitriol, das Wachstum von Keratinozyten zu regulieren, sehr eng mit der Expression des VDR verknüpft ist.

Einen weiteren Beitrag zum Verständnis der antiproliferativen und prodifferenzierenden Wirkung von Vitamin D-Hormon hat der Nachweis erbracht, dass unter dem Einfluß von Calcitriol und anderer Vitamin D-Derivate die c-myc-Expression, die Aktivität der Proteinkinase C und die Konzentration von Parathormon-related protein (PTHrP) in Keratinozyten reguliert werden. Ferner scheint ebenfalls die stimulierende Wirkung von Calcitriol auf die Synthese von Transforming growth factor β_2 (TGF β_2) von Bedeutung zu sein, da die erhöhte Aktivität von TGF β_2 den Zellzyklus und somit das Zellwachstum drosselt. In den meisten Krebszellen findet darüber hinaus eine Blockierung des Zellzyklus beim Übergang von der G₁ zur S-Phase statt. Dies geschieht über eine Inaktivierung von Transkriptionsfaktoren bei Zellen in der G1-Phase, wodurch der Zellzyklus blockiert wird. Es ist bekannt, dass Transkriptionsfaktoren wie z.B. E2F essentiell für die DNA-Synthese in der S-Phase und notwendig für die Regulation anderer wichtiger Proteine sind (Osborne et al., 2002).

Die antiproliferative Wirkung von Vitamin D-Hormon wurde auch für verschiedene Tumorzellen (Brustkrebs, Osteosarkom, Melanom) nachgewiesen. Die folgende Auflistung gibt einen Überblick über weitere Mechanismen, mittels derer das 1,25(OH)₂D₃-VDR-System die Ausreifung malignen Zellen verhindert:

1. Induzierung der Gen-Transkription des Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitors p21 (Liu et al, 1996b), der hemmend auf das Wachstum wirkt und die Differenzierung von Zellen der Monocyten-Makrophagen-Linie fördert.
2. Induzierung der Synthese und/oder Stabilisierung der Synthese des Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitors p27 (Li et al., 2004).
3. In Tumoren, deren Wachstum durch TGF- α /EGFR-Überexpression beschleunigt wird (TGF=tumor growth factor; EGFR=epidermal growth factor receptor): vermehrte Sequestration von Liganden-aktivierten EGFR in frühen

Endosomen, wodurch Wachstumssignale von Liganden-aktivierten EGFR an der Zellmembran und EGFR-Transaktionen mit dem Cyclin D1 Gen im Zellkern vermindert werden (Cordero et al., 2002). Diese Inhibition erklärt auch die Wirkung von Vitamin D-Analoga bei Erkrankungen mit hyperplastischem Keratinozytenwachstum (v.a. Psoriasis vulgaris), weil psoriatische Keratinozyten TGF- α überexprimieren.

4. Induktion der C/EBP $^{\beta}$ -Expression (EBP=enhancer-binding proteins); dieses Protein ist ein potenter Suppressor der onkogenen-Cyclin D1-Signatur in menschlichen epithelialen Tumoren (Lamb et al., 2003) (dieser Mechanismus wurde bereits in der monocytischen Zelllinie HL60 (Ji und Studzinski, 2004) und in Osteoblasten nachgewiesen (Gutierrez et al., 2002).
5. Reduktion des HSPA20-Spiegels. HSPA20 ist ein neues Phosphoprotein, welches in hormonell-regulierten Tumoren (z.B. invasiven Mammakarzinomen) vermehrt nachgewiesen wird und dem eine Rolle bei der Tumordinvasion zugeschrieben wird (Karp et al., 2004; Karp et al., 2007).

Diese Entdeckungen ermöglichen vielfältige Anwendungsmöglichkeiten von 1,25(OH) $_2$ D $_3$ in der klinischen Praxis. So werden Vitamin D-Hormon und Analoga insbesondere zur Behandlung hyperproliferativer Hauterkrankungen (u.a. Psoriasis vulgaris) seit Jahren eingesetzt (Holick, 1999a).

2.10.2 Immunmodulierende Effekte in der Haut

Neuere Studien haben gezeigt, dass Vitamin D-Hormon und seine Analoga auch auf zahlreiche immunkompetente Zellen der Haut eine modulatorische Wirkung ausüben (Adorini et al., 2003; Griffin et al., 2003; Van Etten et al., 2003). Verschiedene immunkompetente Zellen (z.B. Monozyten, T- und B-Lymphozyten, Langerhanszellen) exprimieren den Vitamin D-Rezeptor und besitzen die enzymatische Ausstattung (1 α -Hydroxylase) zur lokalen Synthese von 1,25(OH) $_2$ D $_3$ aus 25(OH)D $_3$ (Van Etten et al., 2003).

Man vermutet, dass die lokale Vitamin D-Synthese in immunkompetenten Zellen eine bedeutende Rolle bei der Kontrolle und Regulation von Immunantworten spielt. So hemmt 1,25(OH) $_2$ D $_3$ die T-Zell-Aktivierung und induziert in unterschiedlichen Modellsystemen die Generation von regulatorischen CD25 $^{+}$ /CD4 $^{+}$ -T-Zellen (Adorini

et al., 2003). In dendritischen Zellen hingegen verhindert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Ausreifung und bewirkt einen Phänotyp, der nach Antigenkontakt die Toleranzentwicklung fördert und die Immunitätsentwicklung hemmt (Adorini et al., 2003; Griffin et al., 2003). Auf diese Weise wird in dendritischen Zellen die Expression sowohl von MHC-II-Molekülen als auch von kostimulatorischen Molekülen wie CD_{40} , CD_{80} und CD_{86} unterdrückt (Griffin et al., 2003). Zudem wird in diesen Zellen eine T-Zell-Aktivierung unterdrückt, indem die Produktion von IL-10 stimuliert und von IL-12 gehemmt wird.

Aktuelle Studien belegen, dass Patienten mit atopischer Dermatitis im Durchschnitt deutlich geringere Mengen an Vitamin-D einnehmen als eine Kontrollgruppe (Sollvoll et al., 2000). Experimentelle Daten zeigen darüber hinaus, dass Vitamin D-Analoga in vitro sowohl die IgE-Produktion als auch die IgE-vermittelte Hautreaktion unterdrücken (Heine et al., 2002; Katayama et al., 1996). Im Mausmodell ließ sich auch für verschiedene andere Autoimmunerkrankungen (z.B. Typ-I Diabetes, rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose) nachweisen, dass durch die frühzeitige Gabe von Vitamin D-Hormon ein Ausbrechen der Krankheit erfolgreich verhindert werden kann (DeLuca et al., 2001; Gregori et al., 2002; Cantorna et al., 1998; Cantorna et al., 1996; Mathieu et al., 1994).

Somit sind Vitamin D-Analoga aufgrund ihrer immunmodulierenden Eigenschaften möglicherweise aussichtsreiche neue Substanzen für die Prävention und Therapie von entzündlichen Hauterkrankungen wie der atopischen Dermatitis oder dem kontaktallergischen Ekzem. Große Erwartungen werden in diesem Zusammenhang auf die Entwicklung neuer Vitamin D-Analoga mit selektivem immunmodulierendem Wirkungsspektrum gesetzt (Zügel et al., 2002).

2.10.3 Regulation der Apoptose von Keratinozyten

Das Vitamin D-Hormon besitzt einerseits proapoptotische Eigenschaften, kann andererseits aber auch antiapoptotische Effekte vermitteln, die für die normale Gewebsbildung und -funktion von Bedeutung sind. Auch im Rahmen von Tumorerkrankungen und anderen hyperproliferativen Krankheitsbildern können sie durch Wachstumshemmung eine wichtige Rolle spielen. Zur Erklärung der zugrunde liegenden zellulären Prozesse wurden verschiedene Mechanismen beschrieben. Grundlegend kann zwischen direkten Mechanismen und indirekten Mechanismen

unterschieden werden: während indirekte Mechanismen über eine Beeinflussung von Wachstumsfaktoren, Zytokinen oder deren Rezeptoren wirken, wird bei direkten Mechanismen meist ein Molekül eines Stoffwechselweges beeinflusst, der zur Apoptose führt (Osborne et al., 2002); z.B. verstärkt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die proapoptotische Wirkung von Tumornekrosefaktor- α (TNF α) (Rocker et al., 1994).

Darüber hinaus ist $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in der Lage, als Agonist den Sphingomyelin-Ceramid-Gangliosid GD3 Stoffwechselweg zu beeinflussen, der zur Apoptoseinduktion führt (Bektas et al., 2000; Müller-Wieprecht, 2000). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induziert hier die neutrale Mg^{2+} -abhängige Sphingomyelinase, die Sphingomyelin zu Ceramid hydrolysiert (Okasaki et al., 1989). Ceramid wiederum führt bei einer Vielzahl von Zellen, einschließlich Keratinozyten, zur Induktion der Apoptose (Geilen et al., 1997) und hat die Fähigkeit, den prodifferenzierenden Effekt von Vitamin D-Hormon auf Keratinozyten zu stimulieren (Bielawska et al., 1992).

Es handelt sich auch hier um einen dosisabhängigen Effekt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. So konnte gezeigt werden, dass physiologische Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Keratinozytenkulturen nicht die Apoptose einleiten, sondern im Gegenteil eine Apoptoseresistenz gegenüber Ceramiden, ultravioletten Strahlen und TNF- α erzeugen (Manggau et al., 2001). Dies ließ sich vor allem anhand einer erhöhten Zellresistenz gegen Apoptose nach einem UV-Trauma (Lee und Youn, 1998; Mason und Halliday, 2001) und beim Schutz vor apoptotischen Wirkungen der Zytokine in Krebszellkulturen (Ketley et al., 1997) beobachten. Hierbei scheint der zytoprotektive bzw. antiapoptotische Effekt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf Keratinozyten mit der Entstehung von Sphingosin-1-phosphat gekoppelt zu sein. Dafür spricht auch, dass die antiapoptotische Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ durch exogene Zugabe des Sphingosinkinase-Inhibitors N,N-Dimethylsphingosin vollständig unterdrückt werden kann (Manggau et al., 2001). Pharmakologische Konzentrationen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($\geq 10^{-6}\text{M}$) haben hingegen einen proapoptotischen Einfluß auf Keratinozyten ergeben. Ähnlich verhält es sich mit den primären Melanozyten, wo sich trotz der Zellwachstum-hemmenden Effekte durch physiologische $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentrationen ebenfalls keine Apoptose auslösen ließ (Sauer et al., 2003).

Man hat auch bei der Regulation des Wachstums von Keratinozyten vergleichbare Effekte beobachtet: während Calcipotriolkonzentrationen um 10^{-11}M die

Zellproliferation eher stimulierten, übten höhere Konzentrationen eher eine dosisabhängige Wachstumshemmung aus (Gniadecki, 1996).

Während $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Gliomen (Elias et al., 2003), Melanomen und Mammakarzinomen (Valtrance et al., 2004) proapoptotisch wirkt, vermittelt es in normalen Astrozyten, Melanozyten (Sauer et al., 2003) und Brustzellen keine proapoptotischen Effekte.

2.10.4 Antioxidative Wirkung von Vitamin D-Hormon

Vitamin D-Hormon per se bewirkt keinen antioxidativen Effekt im Zellstoffwechsel (Lee, 1998), aber es scheint neueren Untersuchungen zufolge die Fähigkeit zu besitzen, die Synthese von Metallothionein (MT) in der Haut zu induzieren (Lee, 1998). MT ist ein intrazelluläres Protein, dessen intrazelluläre Funktionen noch nicht im Detail geklärt sind (Karin, 1985). Es wurde jedoch mehrfach beschrieben, dass MT ein antioxidatives Potential besitzt (Hanada et al. 1995; Le et al., 1998). Es gilt als potenter Radikalfänger insbesondere gegen Hydroxyradikale (Thornalley und Vasak, 1985), die in der Haut u.a. durch Bestrahlung mit UV-Licht entstehen. Somit handelt es sich möglicherweise um einen Schutzmechanismus, der gegen die UVB-induzierte Synthese reaktiver Sauerstoffspezies gerichtet ist. Die Synthese von MT wird auch durch eine Vielzahl von Metallen (z.B. Cd, Zn, Hg, Au, Ag) sowie durch IL-1 und INF- α beeinflusst (Bremner, 1991; Koizumi et al., 1985; Durnam et al., 1984).

Zusammenfassend scheint Vitamin D-Hormon die Fähigkeit zu besitzen, über die Synthese von MT und dessen antioxidativen Effekt einen photoprotektiven Effekt auf die Keratinozyten auszuüben (Lee, 1998).

2.11 Einflußfaktoren auf den Vitamin-D-Status

2.11.1 UV-Strahlung

Sonnenlicht ist für die kutane Synthese von Vitamin D-Hormon essentiell. Nur unter dem Einfluß von UVB-Licht wird 7-DHC in der Haut durch photochemische Isomerisation am B-Ring aufgespalten und nachfolgend in der oben dargestellten Weise weiter metabolisiert. Hierbei spielt für die Aufrechterhaltung eines adäquaten

Vitamin D-Status nicht nur die Quantität der UVB-Strahlung, sondern auch deren Intensität eine wichtige Rolle. In diesem Zusammenhang wurde der Begriff des sog. „Vitamin D-Winters“ geprägt, in dem die UV-Intensität nicht ausreicht, um in der Haut Vitamin D-Hormon zu bilden. Dieser ist in Mittel- und Nordeuropa u.a. von Breitengrad, Höhe, Arbeits- und Lebensgewohnheiten sowie der Ozonschicht abhängig und dauert von September/Oktober bis März/April. Man geht davon aus, dass der Organismus den Calcitriol-Spiegel dann noch etwa 30 bis 60 Tage aufrechterhalten kann durch die Freisetzung von Vitamin D aus Gewebsspeichern (Grover and Morley, 2001).

2.11.2 Saisonale Unterschiede

Auch saisonale Schwankungen des Vitamin D-Status wurden beschrieben: Mit relativ niedrigen Werten im Herbst und Winter und entsprechend höheren Werten im Frühling und Sommer. In der Winterzeit sinken die 25(OH)D–Serumspiegel in Regionen, die oberhalb 37° nördlicher Breite liegen, deutlich ab und erreichen in den Monaten Februar und März ihren Tiefpunkt (Webb et al., 1988; Holick and Jensen, 2003). Wiederum lassen sich diese Effekte sowohl für 1,25(OH)₂D₃, als auch für dessen Vorstufe 25(OH)D₃ nachweisen. Gascon-Barré et al. zeigten, dass im Frühling und Sommer das Gen der 25-Hydroxylase (CYP27A) vermehrt exprimiert wird, was mit dem Anstieg des 25(OH)D₃-Serumspiegels korrelierte (Gascon-Barré et al., 2001).

2.11.3 Umweltbedingungen

In jüngster Zeit hat man bei epidemiologischen Studien, die eine Korrelation zwischen dem Vitamin D-Status sowie der Mortalität und Inzidenz verschiedener Malignome untersuchen, weitere, teils umweltbedingte Risikofaktoren mitberücksichtigt, wie z.B. Alkoholkonsum, ethnische Herkunft, Armut oder den Anteil der in Städten lebenden Studienteilnehmer.

Eine indische Studie untersuchte z.B. den Einfluß der Umweltverschmutzung auf den Vitamin D-Status. Verglichen wurden u.a. die 25(OH)D- und 1,25(OH)₂D-Serumspiegel von 34 Kindern aus einer Gegend mit starker Umweltverschmutzung (Mori Gate) mit Kindern aus einer weniger belasteten Region (Gurgaon) in Delhi. Die Wissenschaftler kamen zu dem Ergebnis, dass die Kinder, die in der Gegend mit

stärkerer Umweltverschmutzung lebten, mehr gefährdet waren, eine Vitamin D-Defizienz zu erwerben (Agarwal et al., 2002). Hierfür wird die Zunahme des troposphärischen Ozons mit vermehrter Adsorption der UV-Strahlung verantwortlich gemacht.

2.11.4 Hauttyp und Pigmentierungsgrad der Haut

Die Einlagerung von Melanin in die Epidermis ist ein sehr effektiver Selbstschutz der Haut gegen die schädigende Wirkung von UV-Strahlen. Da das Adsorptionsspektrum des Hautpigments von UVC-Licht (200-280 nm) bis in sichtbare Wellenlängen (>700 nm) reicht, „schützt“ es auch 7-Dehydrocholesterol vor der Bestrahlung mit UVB-Photonen (Holick, 2004a). Melanin adsorbiert und reflektiert UV-Licht und bindet zudem noch freie Radikale. Daraus resultiert aber auch, dass dunkelhäutige Personen, in deren Epidermis viel Melanin eingelagert ist, weniger Vitamin D-Hormon produzieren können, als hellhäutige (Holick, 1994; Clemens et al., 1982). Hierbei ist weniger die Anzahl der Melanozyten in der Epidermis, sondern vielmehr deren sog. melanogene Aktivität ausschlaggebend. Diese hängt wiederum ab von der Menge des produzierten Pigments, Anzahl und Größe der Melanosomen sowie der Art des Melanins. Eine Person mit Hauttyp 5/6 (dunkle Haut, entwickelt keinen Sonnenbrand) benötigt die 10-50fache Dosis an UV-Strahlung, um die gleiche Menge $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu produzieren, verglichen mit einer Person mit Hauttyp 2 oder 3 (Clemens et al., 1982). Es wird sogar vermutet, dass Vitamin D-Hormon selbst auf Melanozyten einwirkt, indem es die Synthese von Melanin induziert (Tomita et al., 1988).

Es wurden in diesem Zusammenhang auch geschlechtsspezifische Unterschiede nachgewiesen: so berichteten Jablonski et al. 2000, dass Frauen weniger Pigment ausbilden, als Männer. Eine Erklärung hierfür sei der erhöhte Bedarf an Vitamin D-Hormon während der Schwangerschaft und Laktation (Jablonski et al., 2000).

Nach der Hautreaktion auf die erste Sonnenexposition im Sommer lassen sich unterschiedliche Hauttypen differenzieren:

Typ	Dermatitis solaris	Bräunung	Rasse
I	Immer, stark ausgeprägt	Nie	Europäer, Nordamerikaner
II	Immer	Evtl. leicht	
III	Möglich	Ja	
IV	Sehr selten	Stark	
V	Nie	Natürliche, braune Pigmentierung	Dunkelhäutige Rasse, z.B. Inder
VI	Nie	Schwarze Hautfarbe	Schwarze

Tab. 1: Hauttypen

(modifiziert nach Dermatologie Allergologie Umweltmedizin, Springer-Enzyklopädie von Altmeyer P, Bacharach-Buhles M. (2002): Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Seite 661)

2.11.5 Alter

Unabhängig von den jahreszeitlichen Schwankungen des Vitamin D-Status' hat man beobachtet, dass die Serumspiegel für $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mit zunehmendem Alter abnehmen. Die niedrigen Werte des aktiven Vitamin D-Hormons im Alter werden u.a. durch die verminderte Aktivität der renalen $1-\alpha$ -Hydroxylase (Slovik et al., 1981), die rückläufige Nierenfunktion (Gallagher et al., 1979) sowie eine verminderte Verfügbarkeit von 25-Hydroxyvitamin D_3 erklärt (Bouillon et al., 1987). Die niedrigeren Serumspiegel von 25-Hydroxyvitamin D werden hingegen u.a. auf die verringerte Vitamin D-Adsorption im Darm (Clemens et al., 1986) und eine verminderte Speicherung von Vitamin D-Prekursoren in der Haut zurückgeführt (MacLaughlin und Holick, 1985).

2.11.6 Body mass index (BMI)

Darüber hinaus besteht eine inverse Beziehung zwischen dem Body mass index (BMI) und den Serum- $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegeln. Die niedrigen Calcidiol-Werte korrelieren meist mit reaktiv erhöhten Serumspiegeln für Parathormon. Man nimmt an, dass dieser Beobachtung ein größerer Körperpool für $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $25(\text{OH})\text{D}$ oder eine langsamere Mobilisierung aus dem Fettgewebe zugrunde liegen (Need et al., 1993). Es wird auch die Meinung vertreten, dass Fettleibige eher die Sonne meiden, als

Normalgewichtige (Compston et al., 1981). Andere vermuten als Ursache eine vermehrte Synthese von Calcitriol bei Übergewichtigen, wodurch über eine negative Feedback-Regulation die hepatische Calcidolsynthese gehemmt wird (Bell et al., 1984).

2.11.7 Verwendung von Sonnenschutzmitteln

In den letzten Jahrzehnten haben öffentliche Gesundheitskampagnen unser Wissen über die Gefährlichkeit von UV-Strahlung bezüglich der Hautkrebsentstehung verbessert. Die Sonnenschutzempfehlungen beinhalten den Gebrauch von Sonnenschutzmitteln, protektive Kleidung und die Vermeidung von Sonnenlicht; hierbei spielt insbesondere die Kleidung eine wichtige Rolle, da sie UVB-Strahlung vollständig absorbieren kann (Holick, 2003a, Matsuoka, 1992). Es gibt jedoch auch Menschen, die sich aus medizinischen Gründen konsequent vor der Sonne schützen müssen (z.B. Patienten nach Nierentransplantation) oder welche, die aufgrund von Immobilität chronisch eine zu geringe Sonnenexposition aufweisen (z.B. Pflegeheimbewohner). In Vergleichsstudien konnte kürzlich sowohl bei Nierentransplantierten mit adäquater Nierenfunktion (Querings und Reichrath, 2006), als auch bei Patienten mit Xeroderma pigmentosum bzw. Basalzellnävussyndrom (Querings und Reichrath, 2006) gezeigt werden, dass am Ende der Winterzeit signifikant erniedrigte 25(OH)D-Serumspiegel vorlagen; dies im Vergleich mit einer Kontrollgruppe, die bezüglich der Alters- und Geschlechtsverteilung entsprechend war.

2.12 Vitamin D-Mangel

Während die Abnahme der 25(OH)D-Serumkonzentration als Hypovitaminose D bezeichnet wird, impliziert der Begriff des Vitamin D-Mangels eine damit verbundene klinische, biochemische, radiologische oder histologische Anomalie (Parfitt et al., 1982). Daneben existieren die Begriffe der Vitamin D-Insuffizienz, die durch eine Beeinträchtigung der Calcium-Homöostase und des Knochenstoffwechsels charakterisiert ist, ohne klinisch in Erscheinung zu treten, und der Vitamin D-Defizienz, die schließlich zur manifesten Osteomalazie führt.

Zur Evaluation eines Vitamin D-Mangels liegt es nahe, als biochemischen Parameter das wichtigste zirkulierende Stoffwechselprodukt - 25-Hydroxyvitamin D - zugrunde zu legen. Es gilt als guter Marker für den Versorgungsgrad des Organismus' mit Vitamin D, da die Bildung von 25(OH)D aus Vitamin D in der Leber weitgehend vom Angebot an Vitamin D abhängt und da das 25(OH)D im Plasma mit hoher Affinität an das Vitamin D-Bindungsprotein (DBP) bindet, das eine Art Speicher für Vitamin D-Metaboliten darstellt. Zudem unterliegt es nicht einer so strengen Regulation wie Calcipotriol.

Aufgrund der o.g. Einflußfaktoren und Schwankungen des 25(OH)D-Serumspiegels ist ein allgemein und ganzjährig gültiger Referenzbereich schwer zu definieren. Es wird daher diskutiert, ob bei der Festlegung entsprechender Grenzpunkte Altersgruppen und verschiedene Breitengrade berücksichtigt werden müssen oder ob sogar der Parathormonspiegel oder die individuelle UV-Exposition in die Wertung miteinbezogen werden sollten. Auch könne eine unterschiedliche Kalziumaufnahme (Ernährung, supplementär) den unteren Wert verschleiern.

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre belegen, dass nur bei einer Minderheit der Bevölkerung ganzjährig Calcidiol-Serumwerte vorliegen, die als wünschenswert für alle Gesundheitsaspekte angesehen werden. Vitamin D-Defizienz geht im Allgemeinen mit 25(OH)D-Serumspiegeln unter 12,5 ng/mL einher (Holick, 1999b). Unterhalb dieses Schwellenwertes kommt es in der Regel zu einem PTH-Anstieg mit den o.g. Folgeerscheinungen (Ooms et al., 1995; Chapuy et al., 1997). Häufig wird aber auch der untere Referenzwert für 25(OH)D als Maßstab genommen (20 ng/mL; Need et al., 2000).

In Tabelle 2 sind die wichtigsten Ursachen für einen Vitamin D-Mangels zusammengefasst:

Verminderte Synthese	Mangelnde UV-Lichtexposition, dunkle Hautpigmentierung, Winterzeit, Wohnort nördlich des 45. Breitengrades, hoher Grad der Ozonbelastung sowie Luftverschmutzung, Zustand nach großflächigen Verbrennungen
Vermindert Angebot	Mangelnde Nahrungszufuhr, vegetarische Ernährung
Verminderte Aufnahme	Gastrektomie, Malabsorptionssyndrom (chronische Pankreatitis, Sprue)
Mangelnde 25-Hydroxylierung in der Leber	Chronische Lebererkrankungen (chronische Hepatitis, primär biliäre Zirrhose)
Gesteigerter Metabolismus	Therapie mit Antiepileptika (ggf. auch Antikonvulsiva (Diphenhydantoin und Barbiturate)
Verlust	Nephrotisches Syndrom, „protein loosing Entheopathie“
Mangelnde 25-Hydroxylierung in der Niere	Chronische Nierenerkrankungen, X-chromosomal rezessive 1,25-Hydroxylase-Defizienz (Vitamin D-abhängige Rachitis Typ-1)
VDR-Störung und Rezeptor-Varianten	Rezeptordefekt (Vitamin D-abhängige Rachitis Typ-2), verschiedene Vitamin D-Rezeptor-Polymorphismen (=genetisch bedingte molekulare Rezeptorvarianten), die wahrscheinlich zu unterschiedlicher 1,25(OH) ₂ -Vitamin D-Empfindlichkeit oder – Resistenz führen
Onkogene Genese	Mesenchymale Tumore (u.a. Riesenzelltumore, Granulome, Hämangiome und Fibrome sowie Prostatakarzinome)
Vermehrter Bedarf	Wachstum, Schwangerschaft, Laktation, Akromegalie
Andere konsumierende Erkrankungen	Sarkoidose, TBC, histiocytäre Lymphome

Tab. 2: Ätiologie des Vitamin D-Mangels

(modifiziert nach Erkal MZ, Wilde J, Bilgin Y, Akinci A, Demir E, Bödeker RH, Mann M, Bretzel RG, Stracke H, Holick MF (2006): High prevalence of vitamin D deficiency, secondary hyperparathyreoidismus and generalized bone pain in Turkish immigrants in Germany: identification of risk factors. Osteoporosis Int. 17(8): 1133-40)

Vitamin D-Mangel ist nicht nur ein Problem dunkelhäutiger Menschen oder bestimmter Risikogruppen (z.B. bettlägerige Pflegeheimbewohner, Menschen mit Hauttyp I oder Patienten unter konsequentem Sonnenschutz bei immunsuppressiver Therapie), sondern auch unter jungen, aktiven Erwachsenen weit verbreitet: so wurde festgestellt, dass 36% des medizinischen Personals in Boston im Alter zwischen 18 und 29 Jahren am Ende des Winters einen Vitamin D-Mangel aufweisen (Holick, 2003b). Rucker et al. bestimmten in einem gesunden westkanadischen Bevölkerungskollektiv in 3-monatigen Abständen den Vitamin D-Status. Sie stellten bei 34% der Teilnehmer mindestens bei einer Messung eine Vitamin D-Insuffizienz (definiert als 25(OH)D unter 20 ng/mL) fest.

Aktuelle Untersuchungen eines gesunden Bevölkerungskollektives in Deutschland erbrachten folgende Ergebnisse: insgesamt bestand bei 57% der Männer und 58% der Frauen eine Vitamin D-Defizienz, wobei zwischen einer ernsten Defizienz (25(OH)D=<5 ng/mL), moderaten Defizienz (25(OH)D=5-10 ng/mL) und einer milden Defizienz (25(OH)D=10-20 ng/mL) unterschieden wurde. In der Gruppe der 65-79-jährigen Frauen lagen die 25(OH)D-Serumspiegel sogar in der sonnigen Jahreszeit zu 75% unter 20 nmol/L (Hintzpeter et al., 2007).

2.13 Orale Substitution mit Vitamin-D

Gemäß einer Empfehlung der US „Recommended Dietary Allowance“ (RDA) für Vitamin D von 1989 wurde eine tägliche Einnahme von 5 µg Vitamin D (200 IU/Tag; Subcommittee on the Tenth Edition of RDAs, Commission on Life Sciences and National Research Council, 1989) empfohlen. Nachfolgende Studien haben jedoch gezeigt, dass eine so niedrige Tagesdosis Vitamin D keinen Effekt auf den Knochenstoffwechsel ausübt (Dawson-Hughes et al., 1995). Heute geht man davon aus, dass Erwachsene mindestens die fünffache RDA (entspr. 25 µg bzw. 1000 IU/Tag) benötigen, um Knochenbrüchen adäquat vorzubeugen, vor einigen Krebserkrankungen zu schützen und weitere breit gefächerte Gesundheitsvorteile zu erlangen (Vieth, 1999). Die RDA von 1989 ist somit nicht mehr zeitgemäß und sogar neuere Empfehlungen, nach denen Erwachsene über 70 Jahre täglich 15 µg Vitamin D (bzw. 600 IU/Tag) einnehmen sollten, gewährleisten keine optimale Versorgung (Dawson-Hughes et al., 2005). Wenn man berücksichtigt, dass an einem sonnigen Sommertag bei einer Ganzkörper-Sonnenexposition ca. 250 µg (10.000 IU) Vitamin

D pro Tag gebildet werden, ist eine toxischen Überdosierung bei täglicher Einnahme von 20 µg (800 IU) Vitamin D nicht zu erwarten. Man geht vielmehr davon aus, dass ältere Menschen erst bei der Einnahme des 67-fachen der aktuell empfohlen Dosis (15 µg = 600 IU Vitamin D) Überdosierungs-Symptome ausbilden (Vieth, 1999). Vieth konstatiert, dass ältere Menschen ungefähr 100-250 µg (4.000-10.000 IU Vitamin D) benötigen und dass toxische Nebenwirkungen nicht unterhalb einer täglichen Gabe von 1000 µg (40.000 IU Vitamin D) zu befürchten sind.

2.14 Malignes Melanom

Das maligne Melanom ist ein bösartiger Tumor, der von den pigmentproduzierenden Melanozyten ausgeht und überwiegend in der Haut auftritt. Da Melanozyten jedoch auch in anderen Organsystemen vorkommen, gibt es seltener auch Melanome der Augen (Uvea und Retina), der Ohren (Kochlea, vestibuläres Labyrinth), des Gastrointestinaltrakts, der Leptomeningen und der oralen und genitalen Schleimhaut. Der Anteil des malignen Melanoms an der Mortalität durch Hautkrebs beträgt ca. 90%.

2.14.1 Epidemiologie

Obwohl das maligne Melanom mit nur ca. 4% aller Hauttumoren und 1,9% aller malignen Neuerkrankungen in der Bundesrepublik Deutschland relativ selten ist, stellt es die häufigste Todesursache an Hauttumoren weltweit dar. Das National Cancer Institute (Surveillance, Epidemiology and End Results, SEER) verzeichnete im Zeitraum von 1950 bis 2000 eine Zunahme der jährlich neu diagnostizierten Melanome von 619% bei zeitgleicher Zunahme der Mortalität von 165%. Die Inzidenz beträgt in Westeuropa ca. 7-15 pro 100.000 Einwohner und Jahr. In Australien werden aufgrund der hohen UV-Exposition sogar Inzidenzraten von >80 pro 100.000 Einwohner und Jahr erreicht (Garbe et al., 2001). Insbesondere bei stark sonnenexponierten, hellhäutigen Bevölkerungsgruppen stiegen die Inzidenzraten in den letzten Jahrzehnten immer weiter an (Grin-Jorgensen et al., 1992; Sober et al., 1990). Es gibt jedoch auch ethnische Gruppen (Asiaten, Afrikaner), bei denen das maligne Melanom selten auftritt und nahezu ausschließlich im Schleimhautbereich oder palmoplantar lokalisiert ist.

Das maligne Melanom ist die fünfthäufigste Krebserkrankung bei Männern und die siebthäufigste Krebserkrankung bei Frauen. Es gibt zwar Evidenzen, dass sich die Inzidenzzahlen seit Mitte der 1980er Jahre in Europa, Kanada, den USA und Australien stabilisiert haben (Bulliard et al., 1999; DeVries et al., 2003). Gleichzeitig sind die Mortalitätsraten jedoch unvermindert hoch geblieben. Von allen neu diagnostizierten Melanom-Patienten versterben ca. 15% an ihrer Tumorerkrankung. Damit versterben bei weitem mehr Menschen am malignen Melanom, als an allen anderen Hauttumoren zusammen.

2.14.2 Ätiologie

Als besonders gefährdet gelten Individuen mit einer hohen Anzahl von Nävi sowie Träger von Melanomvorläufern (sog. dysplastische Nävi, kongenitale Nävi). Auch polygene Erbfaktoren können zur familiären Häufung von Melanomen führen (sog. FAMMM: familiar atypical multiple mole melanoma syndrome) (Albert et al., 1990 ; Garbe et al., 1994 ; Holly et al., 1987). Man schätzt den Anteil der malignen Melanome bei Personen mit einer familiären Prädisposition auf ca. 8-12%. So weisen Individuen mit einer positiven Familienanamnese bzgl. maligner Melanome und dysplastischem Nävussyndrom ein um den Faktor 100 bis 1000 erhöhtes Risiko der Melanomentstehung auf; ca. 50% dieser Patienten bilden im Laufe des Lebens ein Melanom aus. Bei der Untersuchung familiärer Melanome wurden bereits verschiedene chromosomale Loci identifiziert, insbesondere auf den Chromosomen 1p und 9p (Battistutta, 1994), die in Bezug zu dieser Prädisposition zu stehen scheinen. Auf dem Locus 9p21 liegt ein Tumorsuppressor-Gen, das für den CDK-Inhibitor p16 kodiert und bei familiären Melanomen oft mutiert vorliegt (Gruis et al., 1995).

Es gibt neben diesen konstitutionellen Faktoren auch exogene Einflußgrößen, unter denen die UV-Belastung eine zentrale Stellung einnimmt. Durch ultraviolette Bestrahlung werden einerseits DNS-Schäden ausgelöst. Andererseits vermitteln sie immunsuppressive Effekte, die im Rahmen eines Sonnenbrandes noch verstärkt werden und zu einer Beeinträchtigung natürlicher Schutzmechanismen vor UV-Strahlung führen können. Normalerweise geht eine geschädigte Zelle entweder in die Apoptose über oder wird durch das Immunsystem erkannt und kontrolliert abgebaut. Es existieren darüber hinaus auch zelleigene Reparaturmechanismen, die die Zelle

wieder instandsetzen können. Wenn diese Schutzmechanismen bedingt durch zu hohe UV-Exposition mit immer neuen DNA-Schädigungen oder im Rahmen einer Erbkrankheit (z.B. Xeroderma pigmentosum) überfordert bzw. inaktiv sind, können sich die geschädigten Zellen mit dem veränderten Erbgut als Krebszellen vermehren. Folgende Beziehungen zwischen Sonnenexposition und Melanomentstehung werden immer wieder beschrieben:

- je heller der Pigmentierungstyp ist, desto höher ist die Melanominzidenz: je nach Hauttyp schwankt das Melanomrisiko innerhalb der weißen Bevölkerung um den Faktor 2-4 (Gutman et al., 1993).
- die Melanominzidenz nimmt mit der Nähe zum Äquator zu (Scotto et al., 1987). In diesem Zusammenhang vermutet man einen direkten Zusammenhang zwischen der Entstehung von Melanomen und der UVB-Exposition: so geht die Umweltbehörde der USA davon aus, dass bei einer langfristigen Abnahme der Ozonschicht um 1% die Häufigkeit maligner Melanome um 2% ansteigt.
- die Melanomhäufigkeit nimmt in solchen Körperregionen, die aufgrund geänderter Freizeitgewohnheiten vermehrt der Sonne ausgesetzt sind (z.B. am Rumpf des Mannes und den Beinen der Frau) zu.

Kontrovers wird hingegen die Bedeutung toxischer, medikamentöser oder endokriner Einflüsse (z.B. Gravidität, Kontrazeption) beurteilt. Es gibt jedoch zahlreiche Hinweise (z.B. Spontanremissionen, aggressive Verläufe bei immunsupprimierten Patienten), die die Bedeutung immunologischer Faktoren in der Tumorprogression dieser Neoplasie belegen (Sauter und Herlyn, 1998). Man hat auch festgestellt, dass UV-Strahlung der wichtigste Stimulus für die Melanogenese ist. Vor allem die UVB Strahlung stimuliert die Melanozyten direkt oder über parakrine Stimulatoren, die durch die Keratinozyten sezerniert werden. Zudem aktivieren sie die Melanozyten zu Wachstum und Dendritenformation.

2.14.3 Klinik und Histologie

Anhand morphologischer, histologischer und biologischer Kriterien lassen sich verschiedene Melanomtypen voneinander unterscheiden (s. Tabelle 3).

Typ	Abkürzung	Prozentualer Anteil	Medianes Alter
Superfiziell spreitendes Melanom	SSM	57,4 %	51 Jahre
Noduläres Melanom	NM	21,4 %	56 Jahre
Lentigo-maligna-Melanom	LMM	8,8 %	68 Jahre
Akral-lentiginöses Melanom	ALM	4,0 %	63 Jahre
Nicht klassifizierbares Melanom	UCM	3,5 %	54 Jahre
Sonstige		4,9 %	54 Jahre

Tabelle 3: Klinisch–histologische Subtypen kutaner Melanome im deutschsprachigen Raum. Ergebnisse des Zentralregisters Malignes Melanom 1983 – 1995 (n=30.015)

(nach Barnhill RL, Mihm Jr MC, Fitzpatrick TB, Sober AJ (1993): Neoplasms: Malignant melanoma. In Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM; Austen KF (eds.): Dermatology in General Medicine, McGraw-Hill, New York, 1078-1115).

Diese Einteilung berücksichtigt Wachstumsverhalten, Entwicklungsweg und Lokalisation der Tumore. Es existieren teils auch nicht klassifizierbare Typen, Mischformen und klinische Sonderformen, wie beispielsweise amelanotische Melanome, Schleimhaut- oder andere extrakutane Melanome, die etwa 5% aller Melanome ausmachen (Barnhill et al., 1993; Koh, 1991).

Das *superfiziell spreitende Melanom (SSM)* beginnt in der Regel mit einer intraepidermalen horizontalen Ausbreitungsphase zunächst als Makula. Anschließend entwickelt es sich invasiv flach erhaben, häufig mit farblicher Vielfalt, hellen Regressionszonen und sekundär knotigen Anteilen. Im histologischen Bild imponiert häufig ein pagetoides Muster der intraepidermalen Tumorkomponente im Randbereich. Das *noduläre Melanom (NM)* entwickelt sich meist primär als knotiger, exophytischer, überwiegend schwarzbrauner, häufig erosiv-blutiger Tumor ohne initiale horizontale Wachstumsphase. Daher wird es selten im frühen Tumorstadium diagnostiziert. Das *Lentigo-maligna-Melanom (LMM)* entsteht meist auf dem Boden einer seit vielen Jahren oder Jahrzehnten bestehenden Lentigo maligna (in-situ-Melanom) und ist nahezu ausschließlich im Gesichtsbereich älterer Patienten lokalisiert. Das *akral-lentiginöse (akrolentiginöse) Melanom (ALM)* tritt vorwiegend palmoplantar, teils aber auch sub- oder periungual auf. Charakteristisch sind während der intraepidermalen Frühphase die unscharfe Begrenzung und inkohärente Pigmentierung; später entwickeln sich knotige Anteile als Zeichen invasiven Wachstums.

2.14.4 Prognose und Stadieneinteilung

Noch immer stellt die Früherkennung das beste Mittel zur Verringerung der Mortalität dar (Balch et al., 2001; Jemal et al., 2004). Eine engmaschige Überwachung sollte insbesondere bei Hochrisiko-Patienten (zahlreiche dysplastische Nävi, Melanom in der Eigen- oder Familienanamnese, hohe UV-Belastung) erfolgen. Auch durch verbesserte Aufklärungsmaßnahmen der Bevölkerung und Weiterbildungen der Ärzte lassen sich eine frühere Diagnosestellung und damit bessere Behandlungsergebnisse erzielen. Bei ca. 90% der Patienten liegen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung keine erkennbaren Metastasen vor. Die wichtigsten prognostischen Faktoren beim malignen Melanom sind: die vertikale Tumordicke nach Breslow am histologischen Präparat in mm ($\leq 0,75$ mm: ca. 97% 10-Jahres-Überlebensrate (10-JÜR); 0,76-1,5 mm: ca. 90% 10-JÜR; 1,5-4 mm: ca. 65% 10-JÜR; >4 mm: ca. 50% 10-JÜR) (Garbe et al., 1995); das Vorhandensein einer histologisch erkennbaren Ulzeration, die Tumorlokalisation (ungünstige Prognose für oberen Stamm, Oberarme, Hals und behaarten Kopf), der Invasionslevel nach Clark (s. Abb. 6; insbesondere die Unterscheidung zwischen Level II und III), das Geschlecht (ungünstiger für Männer), der klinisch-histologische Typ (ungünstig: primär noduläre Melanome und akrolentiginöse Melanome) sowie der Nachweis einer Mikrometastasierung in den regionären Lymphknoten (Balch et al., 1993; Garbe et al., 2002). Eine Wächterlymphknotenbiopsie (WLKB = selektive, operative Entfernung des ersten drainierenden Lymphknotens) wird ab einer Tumordicke von 1,0 mm nach Breslow empfohlen, sofern keine Kontraindikationen bestehen. Sie wird derzeit als eine Staging-Untersuchung angesehen, wobei die rezidivfreie Überlebenszeit mit dem Status des WLKs korreliert. Hinsichtlich der Verlängerung der Gesamtüberlebenszeit ließ sich jedoch noch kein Vorteil für die Patienten nach WLKB nachweisen (Gershenwald et al., 1999). Derzeit wird in einer großen multizentrischen Studie untersucht, ob bei Nachweis einer Metastasierung im WLK eine radikale Lymphadenektomie gegenüber der WLKB einen Vorteil für die Prognose des Patienten erbringt; noch wird in einer solchen Situation die radikale Lymphadenektomie empfohlen (Esser et al., 1999).

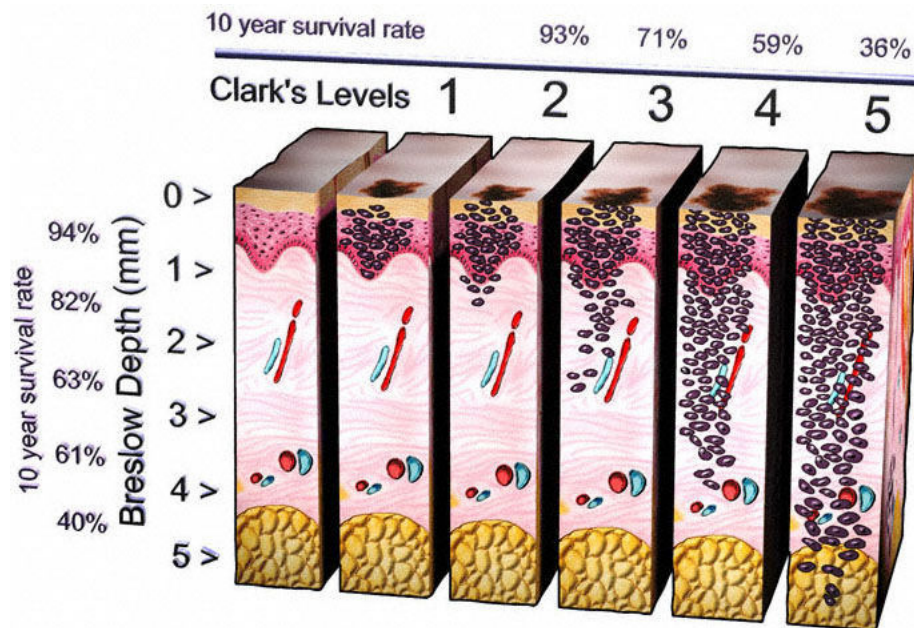


Abb. 6: Graphische Darstellung der Breslow-Tumordicke und des Clark Levels mit den entsprechenden 10-Jahres-Überlebensraten beim Malignen Melanom

(Quelle: Med-Art: <http://med-ars.it>)

Basierend auf neueren Daten für das Metastasierungsrisiko und die Überlebensraten wurde für das maligne Melanom im Jahre 2001 eine neue TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung erstellt (Balch et al. 2001; Soong et al., 1998): während das 10-Jahresüberleben bei „dünnen“ Primärtumoren mit 88-98% noch gut ist, sinkt dieses bei bestehender Satelliten- und In-transit-Metastasierung auf ca. 30-50% und beim Vorhandensein von klinisch manifesten regionären LK-Metastasen sogar auf ca. 20-40%. Liegen bei Diagnosestellung bereits Fernmetastasen vor, betragen die medianen Überlebenszeiten ca. 6-9 Monate bei einem 5-Jahresüberleben von nur 6%. Hier gibt es allerdings organspezifische Unterschiede: kutane, nodale oder gastrointestinale Metastasen: 12,5 Monate, Lungenmetastasen: 8,3 Monate, Hirnmetastasen oder Lebermetastasen: 4,4 Monate (Barth et al., 1995). In Einzelfällen kann auch die chirurgische Entfernung solitärer Metastasen sinnvoll sein, beispielsweise bei solitären pulmonalen Metastasen, Hirnmetastasen oder gastro-intestinalen Metastasen (Sharpless et al., 1998).

Entwickelt sich ein vitiligoartiges Leukoderm, so deutet dies auf einen Immunmechanismus hin, der sowohl normale, als auch Melanomzellen zerstört und folglich mit einer besseren Prognose assoziiert ist. Bei bis zu 5% aller Patienten werden Melanommetastasen ohne Nachweis eines Primärtumors diagnostiziert; dies

deutet auf eine vermutlich T-Zell vermittelte Destruktion des Primarius hin. In den Primärtumoren finden sich histologische teils auch Areale mit Tumorregression, die oft mit einem Infiltrat von tumorinfiltrierenden Lymphozyten assoziiert sind. Lymphozytäre Infiltrate in den Primärtumoren zeichnen sich generell durch eine bessere Prognose aus.

Die Metastasierung beim malignen Melanom kann sowohl primär lymphogen als auch primär hämatogen erfolgen, wobei ca. 2/3 aller Erstmetastasierungen zunächst auf das regionäre Lymphabflußgebiet beschränkt sind. Man unterscheidet hierbei lokale Rezidive nach Entfernung des Primärtumors (teilweise durch einen zu kleinen Sicherheitsabstand bei der Primärexzision bedingt) von sog. Satellitenmetastasen (bis 2cm um den Primärtumor), In-transit-Metastasen entlang des primären Lymphabstromweges bis zum ersten drainierenden Lymphknoten und regionäre Lymphknotenmetastasen. In Einzelfällen können auch >10 Jahre nach der Exzision des Primärtumors noch Metastasen auftreten. Wahrscheinlich verhindern hier Immunmechanismen die Proliferation von Melanomzellen und somit die Entstehung von Makrometastasen.

Die Stadieneinteilung des malignen Melanoms basiert auf Tumordicke und Invasionslevel des Primärtumors (pT) sowie dem Umfang der feststellbaren Metastasierung, wobei regionale Metastasen (N) von Fernmetastasen (M) unterschieden werden (s. Tabelle 4). Die Tumordicke nach Breslow (die zur Hautoberfläche vertikale Distanz zwischen Stratum granulosum und dem tiefsten Tumoranteil in mm, bestimmt aus der dicksten Stelle des Melanoms am geeichten Mikroskop) stellt das wichtigste prognostische Merkmal eines Melanoms dar. Sie ist im Gegensatz zur Tumoreindringtiefe nach Clark nicht von regionalen und individuellen Kaliberschwankungen der Haut abhängig.

Tumorstadien nach der AJCC-Klassifikation, 2001 (American Joint Committee on Cancer)

Tab. 4: T(umor)-klassifikation des Primärtumors

T-Klassifikation	Tumordicke	Weitere prognostische Parameter
Tis Tx	Keine Angabe	Melanoma in situ, keine Tumorerinvasion Stadium nicht bestimmbar*
T1	≤ 1,0 mm	a: ohne Ulzeration, Level II-III b: mit Ulzeration oder Level IV oder V
T2	1,01-2,0 mm	a: ohne Ulzeration b: mit Ulzeration
T3	2,01-4,0 mm	a: ohne Ulzeration b: mit Ulzeration
T4	> 4,0 mm	a: ohne Ulzeration b: mit Ulzeration

* Fehlen einer Bestimmung der Tumordicke und/oder Ulzeration oder unbekannter Primärtumor

Tab. 5: N(ode)-Klassifikation der regionären Lymphknoten

N-Klassifikation	Zahl metastatisch befallener Lymphknoten (LK)	Ausmaß der Lymphknoten-metastasierung
N1	1 LK	a: Mikrometastasierung b: Makrometastasierung
N2	2-3 LK	a: Mikrometastasierung b: Makrometastasierung c: Satelliten- oder in-transit - Metastasen ohne LK-Metastasierung
N3	> 4 LK, Satelliten oder in-transit Metastasen mit LK-Metastasierung	> 4 LK, Satelliten oder in-transit-Metastasen mit LK-Metastasierung

Tab. 6: M(etastasis)-Klassifikation der Fernmetastasen

M-Klassifikation	Art der Fernmetastasierung	LDH
M1a	Haut, Subkutan oder Lymphknoten	Normal
M1b	Lunge	Normal
M1c	Alle anderen Organmetastasen Jede Art von Fernmetastasierung	Normal Erhöht

Tabelle 7: Stadieneinteilung

Stadium	Primärtumor (pT)	Regionäre Lymph-knotenmetastasen (N)	Fernmetastasen (M)
0	In situ Tumoren	Keine	Keine
IA	≤ 1,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IB	≤ 1,0 mm, mit Ulzeration oder Clark Level IV oder V	Keine	Keine
	1,01-2,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IIA	1,01-2,0 mm mit Ulzeration	Keine	Keine
	2,01-4,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IIB	2,01-4,0 mm mit Ulzeration	Keine	Keine
	> 4,0 mm, keine Ulzeration	Keine	Keine
IIC	> 4,0 mm mit Ulzeration	Keine	Keine
IIIA	Jede Tumordicke, keine Ulzeration	Mikrometastasen	Keine
IIIB	Jede Tumordicke mit Ulzeration	Mikrometastasen	Keine
	Jede Tumordicke mit Ulzeration	Bis zu 3 Makrometastasen	Keine
	Jede Tumordicke ± Ulzeration	Keine, aber Satelliten- und/oder in-transit-Metastasen	Keine

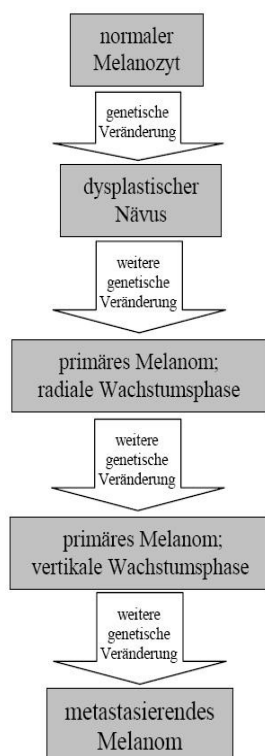
IIIC	Jede Tumordicke mit Ulzeration	Bis zu drei Makrometastasen	Keine
	Jede Tumordicke \pm Ulzeration	Vier oder mehr Makrometastasen oder kapselüberschreitender Lymphknotenbefall oder Satelliten und/oder in-transit- Metastasierung mit Lymphknotenbefall	Keine
IV			Fernmetastasen

2.14.5 Karzinogenese

2.14.5.1 Modell der Multistrittkarzinogenese

Die maligne Transformation von Zellen und Progression von Tumoren wird durch eine Anhäufung verschiedener genetischer Veränderungen ausgelöst. Auch beim malignen Melanom durchlaufen die normalen Melanozyten mehrere Progressionsstufen bis hin zur metastasierenden Melanomzelle (s. Abb. 7).

Hierbei kommt es zu verschiedenen mutagenen Ereignissen. Es resultieren zytogenetische Veränderungen, die sich phänotypisch und in einem



unterschiedlichen Wachstumsverhalten der Zellen manifestieren. Die Karzinogenese besteht somit aus einer Anhäufung von Schäden auf unterschiedlichen biologischen Ebenen. Ein Initiationsereignis (z.B. UV-Strahlung oder chemische Karzinogene) prädisponiert normale Melanozyten für die Tumorentstehung. Es folgen weitere Promotionsereignisse, die zu einer Entdifferenzierung der Zellen führen.

Abb. 7: Schematische Darstellung der Multistrittkarzinogenese beim MM

(nach Hildebrand T (2000): Identifikation und Charakterisierung von Tumor-Progressions-Genen in einem Melanom Modellsystem. Dissertation: 13)

2.14.5.2 Photokarzinogenese

Der Bereich elektromagnetischer Strahlung mit Wellenlängen zwischen 100 und 400 nm wird als Ultraviolette Strahlung (UV) bezeichnet. Jedoch nur ein Teilspektrum der solaren UV-Strahlung (≥ 280 nm) erreicht die Erdoberfläche. Strahlung kürzerer Wellenlänge wird durch die Ozonschicht bei Eintritt in die Atmosphäre weitgehend adsorbiert (Ohnaka, 1993; Tevini, 1994). Während eine Verringerung des atmosphärischen Gesamt ozons zu einer Zunahme der UVB-Intensität auf der Erde führt, wirkt in Industrieländern die Zunahme der Luftverschmutzung und des troposphärischen Ozons wahrscheinlich kompensatorisch (Tevini, 1994).

In der Haut bewirkt UV-Strahlung neben schützenden Effekten wie der vermehrten Hautpigmentierung und der Weitstellung von Gefäßen auch DNS-Schädigungen sowie die Induktion der Apoptose.

Man unterteilt UV-Strahlen nach ihrer biologischen Wirkung gemäß der Klassifizierung der „International Commission on Illumination“ in drei Spektralbereiche: UVA-Strahlung: 320 - 400 nm; UVB-Strahlung: 280 - 320 nm; UVC-Strahlung: 100 - 280 nm.

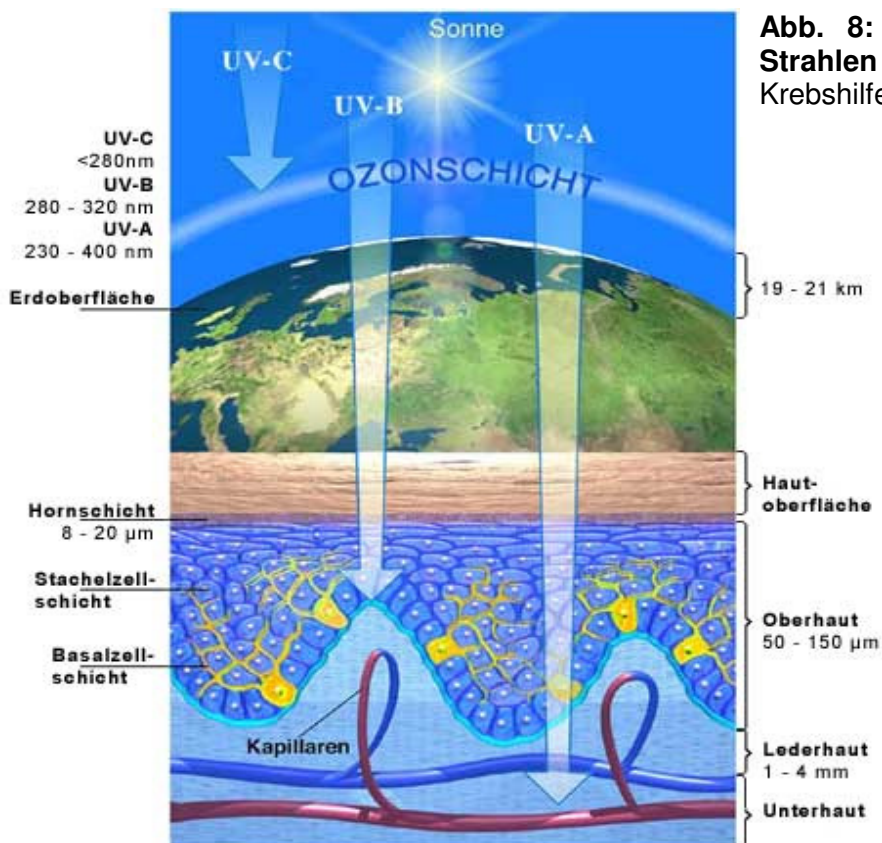


Abb. 8: Eindringtiefe von UV-Strahlen in die Haut (Deutsche Krebshilfe e.V., 2007)

Der Energiegehalt und somit die biologische Wirksamkeit der kurzwelligen UV-Strahlen ist höher als derjenige von langwelliger Strahlung. Von der Wellenlänge ist auch abhängig, in welchen Hautschichten die jeweilige UV-Strahlung adsorbiert wird und wo sie ihre biologische Wirkung entfaltet: während UV-B nahezu vollständig in der Epidermis absorbiert wird (nur ca. 20% der UV-B-Energie erreichen die epidermale Basalzellschicht und das dermale Stratum papillare, Rass, in press), dringt UV-A tiefer in die Epidermis ein und entfaltet 30-50% seiner Energie im dermalen Stratum papillare. Dies erklärt zumindest teilweise, warum UV-B-Effekte (Hautkrebs-Entstehung) hauptsächlich in der Epidermis und UV-A-Effekte (Solare Elastose, Hautalterung) in der Dermis stattfinden (Rass, in press). DNA ist ein hauptsächlich epidermales Chromophore mit einem Adsorptionsmaximum von 260 nm. Sowohl durch UVA als auch durch UVB können strukturelle DNA-Schäden induziert werden. Während UVB zu einer molekularen Neuordnung der DNA mit charakteristischer Formation spezifischer Photoprodukte (typische Cyclobutan Pyrimidin-Dimere oder 6-4-Photoprodukte) führt, deren mutagene Wirkung bekannt ist, wird das genotoxische Potential von UV-A hauptsächlich durch indirekte Mechanismen, wie z.B. oxidative Schäden, hervorgerufen.

UV-Strahlung kann zu Sonnenbränden führen und die Entstehung von Hauttumoren fördern. Dies gilt sowohl für Präkanzerosen der Haut als auch für manifeste Hauttumoren, wie z.B. Plattenepithelkarzinome oder maligne Melanome. Während Präkanzerosen und Plattenepithelkarzinome eher mit der kumulativen UV-Dosis korrelieren, scheint bei den Melanomen eher ein Zusammenhang mit der Zahl schwerer Sonnenbrände, insbesondere während der Kindheit und Jugend zu bestehen. Die Neigung zum Sonnenbrand hängt neben dem individuellen Hauttyp auch von der Qualität und Quantität des Melanins in der Haut ab. Prinzipiell kann UV-Licht jeder Wellenlänge zu einer akuten Entzündungsreaktion führen, allerdings reicht bei UV-B und UV-C eine viel niedrigere Dosis aus, als bei UV-A.

2.14.6 Therapie

Trotz intensiver Forschungsaktivitäten ist das metastasierte Melanom im Stadium IV weitgehend resistent gegen die verfügbaren Chemotherapien, die hierbei überwiegend palliativen Charakter haben (Buzaid et al., 2004). Derzeit wird die Substanz Dacarbazin (DTIC) am häufigsten eingesetzt mit einer objektiven

Remissionsrate von 5-28%, wobei die Remissionsdauer mit meist nur 3-6 Monaten kurz ist. Die verschiedenen Formen der Chemotherapie besitzen zwar unterschiedliche biochemische Ansatzpunkte. Man geht aber dennoch davon aus, dass Chemotherapeutika Krebszellen durch die Induktion von Apoptose abtöten (Hersey et al., 2006; Zhang et al., 2006). Bislang konnten weder Monochemotherapien, noch Polychemotherapien oder Polychemoimmuntherapien eine Verlängerung der Gesamtüberlebenszeit bewirken (Dorva et al., 1999; Falkson et al., 1998). Neuere interessante Therapieansätze untersuchen die Wirksamkeit einer Kombination von hochdosiertem IL-2 mit dem adoptiven Transfer von tumor-reaktiven T-Zellen nach nicht-myeloblativer Behandlung, BRAF Inhibitoren in Kombination mit Chemotherapie oder die Kombination von Chemotherapeutika mit dem Bcl-2 anti-sense Konstrukt Oblimersen. Hier stehen allerdings Wirksamkeitsnachweise in Phase III-Studien noch aus.

2.14.7 Rolle des Immunsystems beim malignen Melanom

Das Immunsystem spielt nicht nur beim Primärmelanom, sondern auch im Stadium der Metastasierung eine wichtige Rolle. Dafür spricht, dass viele Jahre nach der Exzision des Primärtumors noch Metastasen auftreten können, wobei in der Latenzzeit wahrscheinlich Immunmechanismen die Proliferation von Melanomzellen verhindern. Ferner zeigen organtransplantierte Patienten neben dem deutlich erhöhten Risiko für nicht-melanozytäre Hautumore auch eine 9-fach höhere Inzidenz für maligne Melanome.

In den vergangenen Jahren konnte durch immunologische und molekulare Studien gezeigt werden, dass Melanomzellen nicht nur humorale, sondern auch zelluläre Immunantworten, überwiegend durch T-Lymphozyten, hervorrufen können. Diese Lymphozyten lassen sich aus dem peripheren Blut, aus dem Tumor oder aus tumordrainierenden Lymphknoten isolieren und sind für tumor-assoziierte Antigene spezifisch. Man differenziert die Melanom-assoziierten Antigene, die durch T-Zellen erkannt werden, von den sog. Melanozyten-Differenzierungsantigenen (MDA), die sowohl in Melanomzellen, als auch in normalen Melanozyten gefunden werden (z.B. Tyrosin-related protein 1 (TRP-1), Gp100), (Thomson et al., 1988).

Eine Alternative für Chemotherapien oder unspezifische Immuntherapien könnten Melanomvakzine darstellen, da sie nur eine geringe Toxizität aufweisen (Komenaka et al., 2004). Bei der aktiven, spezifischen Immuntherapie des Melanoms wird entweder mittels Vakzination gegen tumor-assoziierte Antigene eine zugrunde liegende Immunreaktion bei diesem immunogenen Tumor verstärkt, oder es werden adoptive Verfahren angewandt, bei denen tumor-spezifische zytotoxische T-Zellen ex vivo nach Aktivierung und Expansion in den Patientenorganismus reinfundiert werden. Dabei stehen vielfältige Antigenquellen zur Verfügung: ganze Zellen, Zelllysate, aufgereinigte Proteine, Peptidpitope, RNA, DNA, mit Tumorantigen-Genen rekombinierte Viren oder Bakterien und genetisch modifizierte Tumorzellen oder dendritische Zellen (Komenaka et al., 2004).

Idealerweise sollen durch eine Immuntherapie zelluläre Immunreaktionen induziert werden, die durch direkte Zell-Zell-Interaktionen oder über Antikörperversmittlung zu einer Lyse der Tumorzelle führen. Der Erfolg dieser antigen-spezifischen Immuntherapie kann dann sichergestellt werden, indem induzierte zytotoxische T-Zellen auf einen Tumor treffen, der diese Antigene im Kontext mit entsprechenden MHC-Molekülen exprimiert. Es ist allerdings bekannt, dass beim malignen Melanom zahlreiche tumor-escape-mechanismen, wie beispielsweise Antigenverlust, Downregulation von MHC Molekülen oder Defekte in der Antigenprozessierung und beim Antigentransport existieren (Ahmad et al., 2004).

2.15 Der Bogen von den Anfängen der Vitamin D-Forschung zur heutigen Bedeutung für eine Vielzahl von Malignomen

Peller und Stephenson machten in den 30er Jahren des 20. Jahrhunderts eine interessante Beobachtung: sie bemerkten in der Belegschaft der US-Navy eine auffällige Diskrepanz zwischen dem häufigen Auftreten von Hautkrebs und dem seltenen Vorkommen interner Krebsleiden (Peller und Stephenson, 1937). Peller vermutete damals, dass durch Hautkrebs eine Art Immunität gegenüber anderen Krebserkrankungen induziert wird (Peller, 1936). Nur wenige Jahre später veröffentlichte der Pathologe Frank Apperly erstmals geographische Daten, die eine inverse Beziehung zwischen dem Ausmaß der UV-Strahlung in Nordamerika und den dortigen Sterblichkeitsraten bezogen auf Krebserkrankungen aufzeigten (Apperly, 1941). In sonnenreichen Gegenden mit niedrigen Breitengraden nahe des

Äquators waren die Sterblichkeitsraten am niedrigsten. Es war daher naheliegend, dass die protektiven Effekte durch Sonnenlicht zumindest teilweise auf einer Vitamin D-Wirkung beruhten. Denn etwa 90% des täglichen Vitamin D-Bedarfes werden unter dem Einfluß von UVB-Strahlung in der Haut gebildet. Da wir in der Regel mit der Nahrung nur sehr geringe Mengen an Vitamin D aufnehmen, wird eine insuffiziente kutane Vitamin D-Synthese bedingt durch anhaltenden „Sonnenmangel“ nicht ausreichend kompensiert; es resultiert ein Vitamin D-Mangelzustand.

Dieser Erklärungsansatz wurde erst 40 Jahre später durch Garland wieder aufgegriffen (Garland und Garland, 1980), der zunächst eine entsprechende Hypothese für das Colonkarzinom vertrat (Garland und Garland, 1980). Es folgten Untersuchungen zum Mammakarzinom (Garland et al., 1990), Ovarial- (Lefkowitz und Garland, 1994) und Prostatakarzinom (Schwartz und Hulka, 1990; Hanchette und Schwartz, 1992) sowie zu vielen weiteren Krebserkrankungen (Grant, 2002).

Freedman untersuchte von 1984-1995 in 24 Staaten der USA die Mortalität von 5 Krebserkrankungen (Ovarial-, Colon- und Prostatakarzinom, Brust- und heller Hautkrebs). Die Sonnenexposition am Wohnort war invers assoziiert mit der Sterblichkeit von Ovarial-, Colon-, Prostata- und Mammakarzinomen, während erwartungsgemäß eine positive Assoziation zum hellen Hautkrebs bestand (Freedman et al., 2002). Auch in vielen anderen Ländern wurden vergleichbare Studien betrieben, z.B. in Japan (Mizoue, 2004) und Spanien (Grant, 2007). In einer aktuellen Publikation werden insgesamt 15 Krebsleiden mit zu geringer Sonnenexposition in Verbindung gebracht (Grant, 2006). Kritisch ist jedoch anzumerken, dass in vielen epidemiologischen Studien zur Inzidenz und Mortalität von Malignomen die solare UV-Strahlung als Richtgröße angegeben wurde. Da es jedoch keinen Goldstandard für die Messung von solarer Strahlung gibt, wurden als Messgrößen u.a. die Breitengrade, aber auch Bodenmessungen in Wetterstationen, Satellitenmessungen und mathematische Algorithmen verwendet, was die Vergleichbarkeit dieser Studien erschwert.

Eine Vielzahl von Laborstudien haben in der Zwischenzeit die These Garlands bestätigt, dass Vitamin D eine wichtige Rolle für die Entstehung von Malignomen und vieler weiterer Gesundheitsstörungen spielt und zumindest teilweise oder unter bestimmten Bedingungen für die protektiven Effekte durch Sonnenlicht verantwortlich ist. In ähnlicher Weise verlief auch der Erkenntnisgewinn über die Bedeutung von Vitamin D für den Knochenstoffwechsel. Zunächst machte Theobald Palm die

Beobachtung, dass solare UV-Strahlung bei Rachitis einen günstigen Einfluß ausübt (Palm, 1890). Viele Jahre später wurden seine Vermutungen wieder aufgegriffen und durch Laborstudien bestätigt. Auch unser heutiges Wissen und Verständnis über die Zusammenhänge zwischen Vitamin D und Krebs basiert auf den Beobachtungen Apperlys, die Jahrzehnte lang unbeachtet blieben und schließlich von Epidemiologen wiederentdeckt wurden. Seitdem bieten sie die Grundlage für ein spannendes Forschungsfeld. Zu den Meilensteinen der Vitamin D-Forschung seit den 1980er Jahren gehörte die Entdeckung, dass viele Gewebe, sowohl neoplastische als auch gesunde, den Vitamin D-Rezeptor (VDR) und die 1α -Hydroxylase exprimieren. Damit verfügen diese Gewebe über jenes Enzym, das die Aktivierung von 25(OH)D zur biologisch aktiven Form, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, katalysiert. Nachgewiesen wurde dies u.a. für Haut-, Prostata-, Colon- und Brustgewebe (Mitschele et al., 2004; Schwartz et al., 1998; Reichrath, 2001; Lehmann et al., 2004). $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ist somit nicht nur ein calziotropes Hormon, sondern auch ein lokal produziertes potentes Hormon, das viele wichtige Eigenschaften und Funktionen besitzt. Man geht davon aus, dass durch eine VDR-Aktivierung die Proliferation von Zellen dosisabhängig verringert wird, was zur Regulierung von hypertrophem Zellwachstum führt (Holick, 2003c). Ebenso nehmen Invasivität, Angiogenese und Metastasierungspotential ab, während Zelldifferenzierung und Apoptose induziert werden (Giovannucci, 2005).

In der Literatur finden sich insbesondere zum **colorektalen Karzinom** eine Vielzahl prospektiver Studien, die eine inverse Beziehung zwischen der 25(OH)D-Serumkonzentration und der Inzidenz und Mortalität des colorektalen Karzinoms aufzeigen. Hierbei handelt es sich überwiegend um sog. „ecologische Studien“, die Umweltfaktoren und bekannte Risikofaktoren in die Analyse einbeziehen. Bedeutsam waren u.a. die Ergebnisse der *Nurses' Health Study* (Feskanich, 2004). In dieser genesteten Fall-Kontrollstudie zeigte sich eine inverse Assoziation zwischen der Odds Ratio für das colorektale Karzinom und den medianen Serumwerten von 25(OH)D; v.a. ältere Frauen hatten bei hohen 25(OH)D-Serumspiegeln ein geringes Erkrankungsrisiko. Erst kürzlich veröffentlichte Gorham einen systematischen Review, in dem er die zahlreichen Studienergebnisse zum colorektalen Karzinom zusammenfasste. Nach seinen Berechnungen hatten Individuen mit hohen 25(OH)D-Serumwerten (≥ 33 ng/ml) eine um 50% geringere Inzidenz ($p=0,01$), als solche mit niedrigen Serumspiegeln (≤ 12 ng/ml; Gorham, 2007). Weniger eindeutig fielen die entsprechenden Studienergebnisse zum **Prostatakarzinom** aus. Ecologische Fall-

Kontrollstudien deuten zwar auf eine vergleichbare Assoziation zwischen Sonnenexposition und dem Prostatakarzinom hin (Hanchette und Schwartz, 1992; Ahonen et al., 2000). Aber nur wenige Studien bestätigten eine inverse Korrelation zwischen dem 25(OH)D-Serumspiegel und dem Auftreten von Prostata-Karzinomen (Platz et al., 2004; Jacobs et al., 2004). Insgesamt sind die Ergebnisse verglichen mit dem colorektalen Karzinom weniger eindeutig und kohärent. Eine aktuelle Populations-basierte Kohortenstudie aus den Niederlanden untersuchte männliche Hautkrebs-Patienten bezogen auf das Prostatakarzinom-Risiko (ED seit 1970: SCC: 2,620; BCC: 9,501; MM: 1,420). Die Patienten wiesen ein um 11% vermindertes Risiko für Prostatakarzinome sowie ein um 27% reduziertes Risiko für fortgeschrittene Prostatakarzinome auf (v.a. wenn der Hautkrebs in chronisch UV-exponierter Haut, z.B. Kopf und Nacken, lokalisiert war, (deVries et al., 2007). Man hat auch beobachtet, dass Farbige, die aufgrund ihrer vermehrten Hautpigmentierung ein erhöhtes Risiko für eine Vitamin D-Defizienz haben, häufiger an Prostatakarzinomen leiden und aggressivere Formen ausbilden, als die weiße Bevölkerung.

2.16 Fragestellung und Hypothese dieser Dissertation

Die Zielsetzung der vorliegenden Studie liegt darin, die möglichen Zusammenhänge zwischen einer Vitamin D-Defizienz und dem Krankheitsverlauf des malignen Melanoms zu untersuchen. Vitamin D-Defizienz ist in Westeuropa nicht nur in den sog. Risikogruppen (z.B. Pflegeheimbewohner) weit verbreitet. Da gerade Patienten mit malignem Melanom in der Vorgeschichte angehalten werden, sich konsequent vor der Sonne zu schützen, sind sie zusätzlich gefährdet, einen Vitamin D-Mangel auszubilden. Somit ist das Wissen um solche Zusammenhänge relevant für die Therapie und für zukünftige Empfehlungen bezüglich des Lichtschutzes.

Eine Vitamin D-Defizienz wird als Risikofaktor für eine Vielzahl von ernsten Gesundheitsstörungen angesehen. Dazu gehören auch verschiedene Krebserkrankungen (z.B. Colon-, Prostata-, Ovarial- und Mammakarzinome). Diese Tumorerkrankungen treten in sonnenreichen Gegenden häufiger auf. Eine ebenfalls erhöhte Mortalität spricht für aggressivere Verlaufsformen, die häufiger und schneller zum Tode führen. Wir haben in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob hohe Vitamin D-Serumspiegel nach UV-Exposition vorteilhafte Krankheitsverläufe beim malignen

Melanom begünstigen. Um diese Hypothese zu untersuchen, wurden im Rahmen dieser Studie die 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel (25(OH)D) von insgesamt 205 Melanom-Patienten verschiedener Tumorstadien bestimmt und mit einer Kontrollgruppe (n=141) verglichen. Der 25-Hydroxyvitamin D-Serumwert gilt als bester Marker für das im Organismus gespeicherte Vitamin D. Besonderes Augenmerk wurde auf den Vergleich der Patientenkollektive im Stadium I und IV gelegt. Anhand der Ergebnisse eines Fragebogens zur individuellen Sonnenlichtexposition wurden zusätzliche Daten erhoben, die möglicherweise den 25(OH)D-Serumspiegel beeinflussen oder mit wichtigen Krankheitsmerkmalen (z.B. Tumordicke, Progression der Erkrankung) in Beziehung stehen.

Die Fragestellungen dieser Studie lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1. Haben Melanom-Patienten statistisch signifikant niedrigere 25(OH)D-Serumspiegel verglichen mit einer Kontrollpopulation?
2. Haben Melanom-Patienten im Spätstadium (Stadium IV) niedrigere 25(OH)D-Serumspiegel als solche im Frühstadium (Stadium I)? Kommt es im Verlauf der Melanomerkrankung (Progress) zu reduzierten 25(OH)D-Serumspiegeln?
3. Existiert eine Korrelation zwischen der Tumordicke bei Erstdiagnose des malignen Melanoms und den 25(OH)D-Serumspiegeln? Haben Patienten mit niedrigem 25(OH)D zum Diagnosezeitpunkt eine höhere Tumordicke verglichen mit Patienten mit höherem 25(OH)D?
4. Haben Patienten mit einer Tumordicke ≤ 1 mm höhere 25(OH)D-Serumwerte als solche mit einer Tumordicke > 1 mm? Kommt es bei Patienten mit großer Tumordicke (> 1 mm) schneller zum Progress der Erkrankung (Eintritt ins Stadium III (Lymphknotenmetastasierung) bzw. ins Stadium IV (Fernmetastasierung) als bei den Patienten, die dünne Melanome haben (≤ 1 mm)?
5. Kommt es bei Patienten mit relativ niedrigen 25(OH)D-Serumwerten schneller zum Progress der Erkrankung (Eintritt ins Stadium III (Lymphknotenmetastasierung) bzw. Stadium IV (Fernmetastasierung)?
6. Beeinflusst der Diagnosezeitpunkt den Krankheitsverlauf des malignen Melanoms?

7. Ist ein Unterschied in der Tumordicke feststellbar in Bezug auf die Jahreszeit, in der das Melanom diagnostiziert wurde?
8. Sind jahreszeitliche Schwankungen der 25(OH)D-Serumspiegel in unserem Studienkollektiv erkennbar?
9. Sind altersspezifische Unterschiede der 25(OH)D-Serumspiegel im Studienkollektiv erkennbar?
10. Sind geschlechtsspezifische Unterschiede der 25(OH)D-Serumspiegel im Studienkollektiv erkennbar?
11. Korreliert der 25(OH)D-Serumspiegel mit dem Body mass index (BMI) der Melanom-Patienten bzw. der gesunden Individuen?
12. Besteht ein Zusammenhang zwischen dem Hauttyp und dem 25(OH)D-Serumspiegel? Hatten Patienten mit hellem Hauttyp (Hauttyp 1 und 2 nach Fitzpatrick) geringere 25(OH)D-Serumspiegel als Patienten mit dunkler Pigmentierung (Hauttyp 3 und 4)?
13. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel?
14. Besteht ein Zusammenhang zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel?
15. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Sonnenexposition in den letzten beiden Jahren und dem 25(OH)D-Serumspiegel?

3. Material und Methodik

3.1 Patientenkollektiv

Ausgewertet wurden in dieser retrospektiven, multizentrischen klinischen Studie insgesamt 205 Patienten mit histologisch gesichertem malignem Melanom. Diese stellten sich im Zeitraum von Dezember 1997 bis März 2007 in der onkologischen Sprechstunde der Universitätshautklinik Homburg (140 Patienten) bzw. des Universitätsklinikums Mannheim (65 Patienten) vor. Die Studie gliedert sich in einen epidemiologischen und einen laborchemischen Teil.

Die Bestimmung der 25-Hydroxyvitamin D-Serumwerte erfolgte durch Herrn G. Pape im Institut für klinische Medizin und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums des Saarlandes mit freundlicher Genehmigung durch Herrn Univ.-Professor Dr. W. Herrmann.

3.2 Ethikkommission

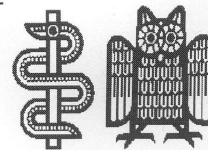
Der Studienplan wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes bewilligt.

Vor Studienbeginn wurden die Probanden über die Zielsetzung und Versuchsdurchführung der Studie informiert. Die Patienten gaben Ihr schriftliches Einverständnis zur Durchführung der Untersuchung und bestätigten damit, dass sie über Sinn, Zweck und Nutzen-Risiko-Relation umfassend aufgeklärt wurden (s.S: 51, Abb. 9).

UNIVERSITÄTSKLINIKUM DES SAARLANDES

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie

Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Tilgen



Bernd Nürnberg
Volhardstr. 1
66424 Homburg
Tel.: 06841/9935981
E-Mail: berndnuernberg@gmx.de

Teilnahme an Forschungsvorhaben zur Untersuchung des Serum-Vitamin-D3-Spiegels (25-Hydroxyvitamin D3) bei Patienten mit malignem Melanom

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

sie haben sich als Patient im Rahmen der dermato-onkologischer Nachsorge in unserer onkologischen Ambulanz vorgestellt bzw. befinden sich in stationärer Behandlung in der Universitätsklinik Homburg. In einem Forschungsvorhaben wird ein möglicher Zusammenhang zwischen verminderten Serum-Vitamin-D-Spiegeln (25-Hydroxyvitamin D) und erhöhter Inzidenz und Mortalität des malignen Melanoms untersucht.

Sie können als Patient das bestehende Forschungsprojekt aktiv unterstützen. Die Teilnahme an den wissenschaftlichen Vorhaben erfolgt durch eine einfache Blutentnahme aus der Vene (im Rahmen einer Routineblutentnahme); dabei ist die Entnahme eines zusätzlichen Blutröhrchens (Monovette) mit einem Gesamtvolumen von 10 ml erforderlich.

Kurzbeschreibung des Forschungsprojektes: Vitamin-D-Mangel wird als möglicher Risikofaktor verschiedener Krebsleiden angesehen. So korrelieren hohe 25-Hydroxyvitamin-D-Serumspiegel mit reduzierten Mortalitätsraten für Colon-, Mamma-, Ovarial- und Prostatakarzinom. Im aktuellen Forschungsprojekt sollen die Serum-Vitamin-D-Spiegel bei Melanom-Patienten in verschiedenen Tumorstadien untersucht werden. Die Serumprobe wird sowohl für die aktuelle Untersuchung verwendet, als auch in unserer „Serumbank“ über Jahre aufbewahrt, um ggf. zu einem späteren Zeitpunkt bei im Rahmen dieses Forschungsprojektes neu auftretenden Fragestellungen genutzt zu werden.

Die Teilnahme an dem genannten Forschungsvorhaben erfolgt:

- freiwillig
- anonym
- kostenlos

Mit der Teilnahme gestatten Sie eine elektronische Datenerfassung der projektbezogenen Informationen, Austausch dieser Daten im Rahmen wissenschaftlicher Kooperation und gegebenenfalls eine Veröffentlichung in wissenschaftlichen Publikationsorganen. Der Umgang mit patientenbezogenen Daten erfolgt in jedem Fall anonymisiert.

Einverständniserklärung

Ich erkläre mich mit der Übereignung einer Blutprobe zu den obigen Bedingungen und für die Teilnahme an dem o.g. Forschungsvorhaben einverstanden.

Datum der Blutentnahme:

Unterschrift des Probanden

Unterschrift des Arztes

Abb. 9: Einverständniserklärung zur Studienteilnahme

3.3 Anamnese und Recherche der Krankheitsverläufe

Die Patientendaten wurden durch Studium der onkologischen Akten sowie anhand der Entlassungsberichte und stationären Akten erhoben und in einem eigens für diese Studie entworfenen standardisierten Fragebogen (s. S 56 ff.) festgehalten. Teils erfolgten auch weiterführende Anamnesegespräche mit den Patienten zur Komplettierung der Angaben. Dokumentiert wurden u.a. die folgenden Parameter:

1. **Personendaten:** u.a. zur Feststellung von Alter, Geschlecht und Body mass index (BMI)
2. **Klassifikation bei Diagnosestellung:** Datum der Erstdiagnose, histologischer Typ des Melanoms, Lokalisation des Tumors, Tumordicke nach Breslow in mm, Clark Level, Amelanotische Morphologie, Ulzeration, Entstehung auf dem Boden eines Nävuszellnävus, Vorhandensein von Lymphknoten- bzw. Hautmetastasen, AJCC-Stadium
3. **Schildwächterlymphknotenbiopsie**
4. **Lymphknotendisektion**
5. **Therapie:** Low dose-Interferon (Interferon-alpha 2a), High dose-Interferon (Interferon-alpha 2b), Intraläsionale IL-Behandlung (Interleukin-2), Chemotherapie (u.a. DTIC, DVP, BHD-Schemata)
6. **Dokumentation des Krankheitsverlaufes:** Lymphknotenmetastasierung (Stadium III), Fern- bzw. Organmetastasierung (Stadium IV)
7. **Vitamin D-Substitution in der Anamnese**
8. **Serologische Parameter:** S-100, LDH, Triglyzeride, Cholesterin

Zudem erfolgte eine telefonische Befragung der Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Datenerhebung noch in der onkologischen Nachsorge der Universitätshautklinik Homburg befanden. Hierzu wurde ein standardisierter Fragebogen mit Informationen zur Sonnenlichtexposition verwendet (modifiziert nach C. Garbe, s.S. 62 ff.) mit den folgender Kategorien:

1. **Personendaten**
2. **Pigmentierungsmerkmale:** Augenfarbe, Haarfarbe im Alter von 20 Jahren, Hautpigmentierung, Bestimmung des Hauttyps nach Fitzpatrick
3. **Beruf:** Arbeiten im Freien, Arbeiten mit unbedeckten Körperpartien

4. **Sonnenexposition in der Freizeit:** Einstellung zur Sonne, Sonnenreaktion auf die ersten Sonnenstrahlen im Jahr, Grad der Bräunung in den letzten 2 Jahren, Art und Dauer der Sonnenbestrahlung in den letzten 2 Jahren
5. **Solariumbesuche**
6. **Sonnenbrände:** Anzahl gesamt und mit genauen Altersangaben
7. **Sonnenschutzmittel:** Verwendung, Grund des Gebrauchs, Anwendungsmodalitäten, Lichtschutzfaktor, Präparate

3.4 Labor

Allen Patienten wurde Vollblut in einem Serumröhrchen abgenommen. Dieses wurde anschließend zentrifugiert, in Plastikröhrchen aliquotiert und bis zur Messung bei -50°C gelagert. Die tiefgefrorenen Proben wurden gesammelt zu Herrn G. Pape in das Institut für klinische Medizin und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums des Saarlandes gebracht und dort analysiert. Als Kontrolle diente das Serum von insgesamt 141 Patienten, die in ihrer Vorgeschichte kein Melanom angaben. Die Kontrollgruppe bestand aus Patienten der dermatologischen Hochschulambulanz (n=71) sowie asservierten Serumproben des Instituts für Virologie des Universitätsklinikums des Saarlandes (n=70). Hierbei handelte es sich um Patienten der hiesigen orthopädischen Klinik, die vor operativen Eingriffen eine virologische Routinediagnostik erhielten. Die Blutabnahmen erfolgten aufgrund der oben erwähnten jahreszeitlichen Schwankungen des Vitamin D-Serumspiegels im Zeitraum von Oktober bis April. Sämtliche Blutproben (n=345) wurden im selben Labor analysiert.

3.5 Bestimmung der 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel

Die quantitative Bestimmung von 25(OH)D erfolgte im Plasma durch einen 25(OH)D Kit der Firma DiaSorin (LIAISON® 25-OH-Vitamin D-Assay). Bei dem Verfahren handelt es sich um einen direkten, kompetitiven Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA). Dabei werden spezifische Antikörper gegen Vitamin D zur Beschichtung von Magnetpartikeln (Festphase) eingesetzt. Zur Bindung von Vitamin D wird ein Isoluminolderivat verwendet. Während der Inkubation wird das 25(OH)-Vitamin D von seinem Bindungsprotein gelöst und konkurriert nun mit dem markierten Vitamin D um die Bindungsstelle des Antikörpers. Anschließend wird das ungebundene Material in

einem Waschzyklus entfernt; es folgt die Zugabe von Starterreagenzien und die Initiierung der Chemilumineszenz-Reaktion. Das Lichtsignal wird von einem Photomultiplier in relativen Lichteinheiten (RLU) gemessen und ist zur Konzentration des 25(OH)-Vitamin D, den Kalibratoren sowie den Proben oder Kontrollseren umgekehrt proportional.

3.6 Statistische Methoden

Zur statistischen Auswertung und biometrischen Prüfung der im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Parameter wurde das Programm „*Spss für Windows, Version 13,0*“ verwendet. Die Graphen wurden mit dem Programm „*Excel*“ (Microsoft Windows, Version 2003) sowie ebenfalls mit „*Spss für Windows, Version 13,0*“ erstellt. Die Durchführung und Auswertung der statistischen Verfahren wurde am Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik der Universitätskliniken des Saarlandes durch Herrn PD Dr. med. Stefan Gräber supervidiert.

Zunächst wurden die Mittelwerte, Mediane sowie die Standardabweichungen wichtiger Parameter ermittelt. Die Mittelwerte geben einen allgemeinen Durchschnittswert der Stichprobe an, während zur Berechnung der Mediane die Daten der Größe nach geordnet und jeweils die Werte in der Mitte der Liste als Mediane bezeichnet werden. Die Standardabweichung ist ein Maß für die Beurteilung der Streuung der Messwerte und wird aus der Differenz der einzelnen Werte zum Mittelwert errechnet. Darüber hinaus wurde der Mann-Whitney-U-Rangsummen-Test durchgeführt, der zur Prüfung des Lageunterschiedes zwischen Medianen und zwei unabhängigen Fallgruppen angewendet wurde. Dieser nicht parametrische Test macht keine Annahmen über die Verteilung der Daten und kann daher auch bei nicht normalverteilten Stichproben verwendet werden. Anstelle der tatsächlichen Messwerte werden die zugehörigen Rangzahlen zur Berechnung der Teststatistik zu Grunde gelegt. So lassen sich Unterschiede zwischen einzelnen Untersuchungsgruppen ermitteln und beurteilen. Aussagen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ wurden in der vorliegenden Studie als statistisch signifikant gewertet.

Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse wurden Boxplots herangezogen. Die Ausdehnung der Box gibt eine Auskunft über den Abstand zwischen dem 25%- und dem 75%-Quartil. Darin befinden sich 50% der Messwerte. Dies bedeutet, dass sich bei größerer Streuung der Messwerte auch der Quartilabstand vergrößert. Des Weiteren werden Maximal- und Minimalwerte dargestellt, sowie Extremwerte bzw. Ausreißer.

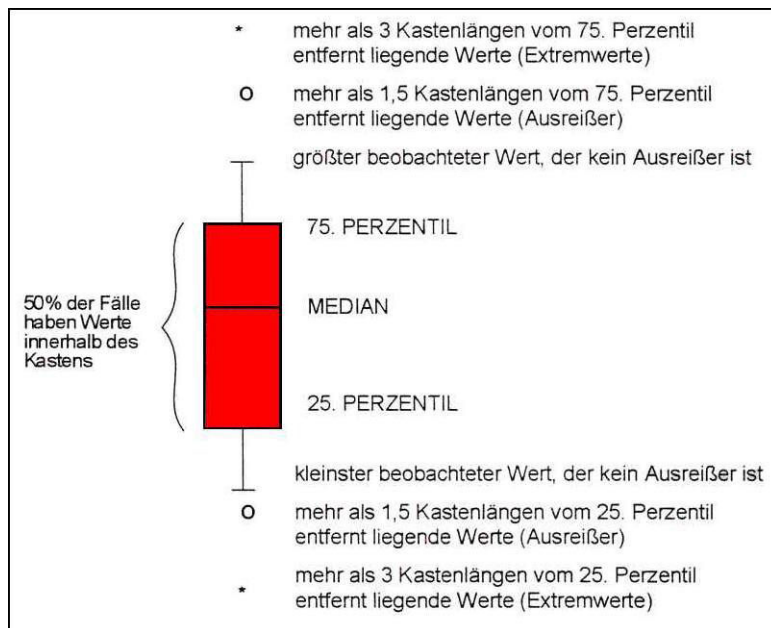


Abb. 10: Erklärung der Boxplot-Darstellungen

Während der Median als mittlerer Repräsentant einer Stichprobe ausgewählt wird, gibt der Mittelwert den allgemeinen Durchschnitt einer Stichprobe an. Eine symmetrische Verteilung zeichnet sich durch eine Übereinstimmung von Mittelwert und Median aus; demgegenüber weisen Unterschiede beider auf eine schiefe Verteilung hin.

3.7 Fragebogen für Melanompatienten und zur Sonnenlichtexposition

Auswertungsbogen der Melanompatienten

1. PERSONENDATEN

Geburtsdatum:

(Tag/Monat/Jahr)

□□/□□/□□

Geschlecht:

männlich

weiblich

(1)

(2)

☐

2. BODY MASS INDEX

BMI-Wert:

Größe

Gewicht

☐

3. EINTEILUNG BEI DIAGNOSESTELLUNG

Typ:

Superfiziell spreitendes Melanom (SMM)

Noduläres Melanom (NM)

Lentigo-maligna-Melanom (LMM)

Akral-lentiginöses Melanom (ALM)

Schleimhaut-Melanom

Nicht klassifizierbares Melanom (UCM)

Metastase ohne Primarius

Sonstige

(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

(6)

(7)

(8)

☐

Singulär

Multiple

(s)

(m)

Lokalisation(en):

☐

Gesicht

Sonstiger Kopf

Hals

Brust/Oberbauch

Rücken

Unterbauch

Gesäß

Äußeres Genitale

(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

(6)

(7)

(8)

Oberarm (incl. Ellenbogen)	(9)
Unterarm	(10)
Hand	(11)
Oberschenkel (incl. Knie)	(12)
Unterschenkel	(13)
Fuß	(14)
Auge	(15)
Schleimhaut	(16)
Primarius unbekannt	(17)

Tumordicke nach Breslow (mm): _____

☐

Clark Level:

☐

I	(1)
II	(2)
III	(3)
IV	(4)
V	(5)
Unbekannt	(6)

Amelanotisches MM:

☐

Ja	(1)
Nein	(2)
Unbekannt	(3)

Ulzeration:

☐

Ja	(1)
Nein	(2)
Unbekannt	(3)

Auf dem Boden eines NZN:

☐

Ja	(1)
Nein	(2)
Unbekannt	(3)

Lymphknotenmetastasen:

☐

Ja	(1)
----	-----

Singulär	(s)
Multiple	(m)

Lokalisation(en): _____

Satelliten-Metastasen	(a)
In-Transit-Metastasen	(b)
Regionale LK-Metastasen	(c)
Fernmetastasen	(d)

Nein (2)

Hautmetastasen (subkutan oder knotig):



Ja (1)

Singulär (s)
Multiple (m)

Lokalisation(en): _____

Satelliten-Metastasen (a)
In-Transit-Metastasen (b)
Fernmetastasen (c)

Nein (2)

AJCC-Stadium: _____

4. SENTINELLYMPHONODEKTOMIE



Ja (1)

Singulär (s)
Multiple (m)

Lokalisation(en): _____ Ergebnis: _____

_____ Ergebnis: _____

Axillär (a)
Inguinal (b)
Popliteal (c)
Sonstige (d)

Nein (2)

5. LYMPHKNOTENDISSEKTION



Ja (1)

Singulär (s)
Multiple (m)

Lokalisation(en): _____ Ergebnis: _____

_____ Ergebnis: _____

Axillär (a)
Inguinal (b)
Ileakal (c)
Popliteal (d)
Sonstige (e)

Nein (2)

6. THERAPIE



Low dose-Interferon (Interferon-alpha 2a) (1)
Zeitraum: _____

High dose-Interferon (Interferon-alpha 2b) (2)
Zeitraum: _____

Intraläsionale IL-II-Behandlung (Interleukin 2) (3)
Zeitraum: _____

CHEMOTHERAPIE (4)

DTIC-Schema (a)
Zeitraum: _____

DVP-Schema (b)
Zeitraum: _____

BHD-Schema (c)
Zeitraum: _____

Sonstige (d)
Zeitraum: _____

7. VERLAUF

Stadium III erreicht:



Bei Diagnosestellung (1)
Im Verlauf (2)

Singulär (s)
Multiple (m)

Lokalisation(en): _____

Satelliten-Metastasen (a)
In-Transit-Metastasen (b)
Regionale LK-Metastasen (c)
Fernmetastasen (d)

Zeitraum zwischen ED und Erreichen des Stadium III: _____

Stadium IV erreicht:

I. Fernmetastasen (subkutan oder knotig):



Bei Diagnosestellung (1)
Im Verlauf (2)

Singulär (s)
Multiple (m)

Lokalisation(en): _____

II. Organmetastasen:



Bei Diagnosestellung (1)
Im Verlauf (2)
Keine (3)

Singulär (s)
Multiple (m)

Lokalisation(en): _____

Lungenfilia(e)	(a)
Leberfilia(e)	(b)
Milzfilia(e)	(c)
Hirnfilia(e)	(d)
GI-Filia(e)	(e)
Knochenfilia(e)	(f)
Nebennierenfilia(e)	(g)
Sonstige	(h)

Zeitraum zwischen ED und Erreichen des Stadium IV: _____

Zeitraum zwischen ED und erster Organfilialisierung: _____

Zeitraum zwischen ED und Tod des Patienten: _____

8. SEROLOGISCHE VERLAUFSPARAMETER:

S-100

Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____

LDH

Triglyzeride

Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____
Datum: _____	Wert: _____	Datum: _____	Wert: _____

Cholesterin

Fragebogen zur Lichtexposition

1. PERSONENDATEN:

Geburtsdatum:

(Tag/Monat/Jahr)

□□/□□/□□

Geschlecht:

männlich

(1)

weiblich

(2)

☐

2. PIGMENTIERUNGSMERKMALE:

Augenfarbe:

blau-grau

(1)

grün-braunmelirt

(2)

braun

(3)

☐

Haarfarbe im Alter von 20 Jahren:

rot-blond

(1)

hellblond-dunkelblond

(2)

brau (brünett)

(3)

schwarz

(4)

☐

Hautpigmentierung:

(nicht sonnenlichtexponierte Areale)

weiß

(1)

leichte Pigmentierung

(2)

deutliche Pigmentierung

(3)

☐

3. BERUF

Welchen Beruf haben Sie erlernt?

Welchen Beruf haben Sie am längsten ausgeübt?

Haben Sie Arbeiten im Freien durchgeführt?

fast immer

(1)

gelegentlich

(2)

nie

(3)

☐

Haben Sie sich während der Arbeit bei Sonnenschein mit unbedeckten Körperpartien

(Oberkörper, Beine etc.) der Sonne ausgesetzt?

ja

(1)

nein

(2)

Wenn ja: etwa wie viele Jahre lang?

☐☐☐

4. SONNE IN DER FREIZEIT

Einstellung zur Sonne

Wie war bisher Ihre Einstellung zur Sonnenbestrahlung Ihres Körpers? (bitte die am ehesten zutreffende Möglichkeit ankreuzen)

- | | | |
|--|-----|--------------------------|
| - Ich liebe die Sonne und habe mich
so oft wie möglich ins Sonnenlicht gelegt | (1) | <input type="checkbox"/> |
| - Ich schätze die Sonne und lege mich gerne,
aber in Maßen ins Sonnenlicht | (2) | |
| - Ich meide allzuviel Sonnenbestrahlung, da
ich Sonnenlicht nicht gut vertrage oder nicht schätze | (3) | |
| - Ich meide Sonnenbestrahlung, da ich sie für
gefährlich für meine Haut halte | (4) | |

Sonnenreaktion

Wie reagiert Ihre Haut, wenn Sie sich erstmals im Jahr (z.B. im Juni) in Deutschland in die Sonne legen (eine Stunde oder länger)?

- | | | |
|--------------------------------------|-----|--------------------------|
| - nie Bräunung, immer Sonnenbrand | (1) | <input type="checkbox"/> |
| - keine Bräunung, meist Sonnenbrand | (2) | |
| - meist Bräunung, selten Sonnenbrand | (3) | |
| - immer Bräunung, nie Sonnenbrand | (4) | |

Der Grad Ihrer Bräunung war in den letzten 2 Jahren (am ehesten zutreffende Möglichkeit)

- | | | | | |
|-------------|-----|-----------|-----|--------------------------|
| - im Sommer | und | im Winter | | <input type="checkbox"/> |
| - tief | und | mittel | (1) | |
| - tief | und | mild | (2) | |
| - mittel | und | mild | (3) | |
| - mild | und | kaum | (4) | |

Art und Dauer der Sonnenbestrahlung

Haben Sie sich in den letzten 2 Jahren der Sonne mit freien Körperpartien ausgesetzt?

- | | | | |
|------------------------|------|-----|--------------------------|
| - kaum oder gar nicht: | ja | (1) | <input type="checkbox"/> |
| | nein | (2) | |

- | | | | |
|------------------------------------|------|-----|--------------------------|
| - zu Hause (Garten, Veranda usw.): | ja | (1) | <input type="checkbox"/> |
| | nein | (2) | |

wenn ja: wie viele Tage in 2 Jahren? ☐

- | | | | |
|--|------|-----|--------------------------|
| - sportliche Aktivitäten in der Heimat
(Wassersport usw.) | ja | (1) | <input type="checkbox"/> |
| | nein | (2) | |

wenn ja: wie viele Tage in 2 Jahren? ☐

- | | | | |
|--|------|-----|--------------------------|
| - Strandurlaube
(Mittelmeer und Subtropen
oder Tropen) | ja | (1) | <input type="checkbox"/> |
| | nein | (2) | |

wenn ja: wieviele Tage in 2 Jahren? ☐

- Andere Urlaube mit viel	ja	(1)	<input type="checkbox"/>
Sonnenbestrahlung?	nein	(2)	
wenn ja, wie viele Tage in 2 Jahren?			<input type="checkbox"/>

Wie viele Tage haben Sie sich insgesamt in den letzten 2 Jahren der Sonne ausgesetzt?	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------

Solarium

Besuchten Sie in den letzten 5 Jahren ein Solarium?

regelmäßig	(1)	<input type="checkbox"/>
gelegentlich	(2)	
nie	(3)	

Wenn ja: wie oft durchschnittlich im Monat?	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------

Wenn ja: wie oft schätzungsweise insgesamt bisher lebenslang?	<input type="checkbox"/>
---	--------------------------

Sonnenbrände

Haben Sie jemals einen schmerzhaften Sonnenbrand über 2 Tage oder länger gehabt?

keinen	(1)	<input type="checkbox"/>
1mal	(2)	
2-4mal	(3)	
5-10mal	(4)	
mehr als 10mal	(5)	
weiß nicht	(6)	

Wieviele Sonnenbrände mit nachfolgender Schälung der Haut erinnern Sie in den letzten 5 Jahren?

keinen	(1)	<input type="checkbox"/>
1mal	(2)	
2-4mal	(3)	
5-10mal	(4)	
mehr als 10mal	(5)	
weiß nicht	(6)	

Wieviele Sonnenbrände mit nachfolgender Schälung der Haut hatten Sie nach Vollendung Ihres 20. Lebensjahres?

keinen	(1)	<input type="checkbox"/>
1mal	(2)	
2-4mal	(3)	
5-10mal	(4)	
mehr als 10mal	(5)	
weiß nicht	(6)	
bin noch nicht 20 Jahre alt	(7)	

Wieviele Sonnenbrände mit nachfolgender Schälung der Haut hatten Sie vor Vollendung Ihres 20. Lebensjahres?

- | | | |
|----------------|-----|--------------------------|
| keinen | (1) | <input type="checkbox"/> |
| 1mal | (2) | |
| 2-4mal | (3) | |
| 5-10mal | (4) | |
| mehr als 10mal | (5) | |
| weiß nicht | (6) | |

Sonnenschutzmittel

Verwenden Sie Sonnenschutzmittel?

- | | | |
|------------------|-----|--------------------------|
| ja, regelmäßig | (1) | <input type="checkbox"/> |
| ja, gelegentlich | (2) | |
| nein | (3) | |

Wenn ja: hauptsächlich aus welchem Grund?

- | | | |
|--|-----|--------------------------|
| zur besseren Bräunung | (1) | <input type="checkbox"/> |
| zum Schutz vor Sonnenbrand | (2) | |
| zum Schutz vor langfristigen Hautschäden | (3) | |

Wenn ja: wieviele Jahre schon?

- | | | |
|--------------------|-----|--------------------------|
| weniger als 1 Jahr | (1) | <input type="checkbox"/> |
| 1-10 Jahre | (2) | |
| mehr als 10 Jahre | (3) | |

Wenn ja: wie oft pro Sonnenbad?

- | | | |
|----------|-----|--------------------------|
| einmal | (1) | <input type="checkbox"/> |
| mehrfach | (2) | |

Wenn ja: welchen Lichtschutzfaktor haben Sie am häufigsten gewählt?

- | | | |
|---------------|-----|--------------------------|
| 2-4 | (1) | <input type="checkbox"/> |
| 5-10 | (2) | |
| größer als 10 | (3) | |
| weiß nicht | (4) | |

Wenn ja: welche Art von Präparaten haben Sie am häufigsten benutzt?

- | | | |
|------------|-----|--------------------------|
| Creme | (1) | <input type="checkbox"/> |
| Milch | (2) | |
| Gel | (3) | |
| Öl | (4) | |
| Sonstiges | (5) | |
| weiß nicht | (6) | |

Medikamentöse Behandlung

Vitamin-D-Substitution?

- | | | |
|---------------------|-----|--------------------------|
| ja, regelmäßig | (1) | <input type="checkbox"/> |
| ja, intermittierend | (2) | |
| nein | (3) | |

4. Ergebnisse

4.1 Übersicht und Charakteristika des Gesamtkollektives

205 Patienten mit histologisch gesichertem malignem Melanom wurden retrospektiv untersucht. Der Anteil der Frauen lag bei n=92 (44,9%), der der Männer bei n=113 (55,1%). Das Durchschnittsalter betrug 59,5 Jahre (Range von 21-86 Jahre).

Variable	Melanom-Patienten (n=205)	Kontrollgruppe (n=141)	gesamt (n=346)
Geschlecht			
Männer	55,1% (113)	42,6% (60)	100% (173)
Frauen	44,9% (92)	57,4% (81)	100% (173)
Altersgruppen			
14-34 Jahre	4,9% (10)	28,4% (40)	14,5% (50)
35-64 Jahre	52,7% (108)	46,8% (66)	50,3% (174)
≥65 Jahre	42,4% (87)	24,8% (35)	35,3% (122)
Body mass index			
<20 kg/m ² (Untergewicht)	2,6% (2)	11,9% (5)	5,9% (7)
20-24 kg/m ² (Normalgewicht)	33,8% (26)	47,6% (20)	38,7% (46)
25-29 kg/m ² (Übergewicht)	42,9% (33)	28,6% (12)	37,8% (45)
≥30 kg/m ² (Fettleibigkeit)	20,8% (16)	11,9% (5)	17,7% (21)
Serumspiegel			
25(OH)D (ng/mL)	16,9 (7,0-58,8)	18,8 (7,0-40,8)	17,7 (7-58,8)
25(OH)D-Gruppen			
<10 ng/mL	16,4% (41)	27,7% (39)	23,1% (80)
10-20 ng/mL	58,8% (119)	35,5% (50)	48,9% (169)
>20 ng/mL	22,0% (45)	36,9% (52)	28,0% (97)

Tab. 8: Übersicht und Charakteristika des Gesamtkollektivs

Die Ergebnisse der 25(OH)D-Serumkonzentrationen wurden zunächst auf Normalverteilung hin geprüft. Dabei kam der Kolmogorov-Smirnov-Test zur Anwendung. Dieser basiert auf der größten absoluten Differenz zwischen beobachteter und erwarteter kumulativer Verteilung. Hier zeigte sich eine sog. „schiefe Verteilung“ der Messwerte, die in der Abbildung 14 graphisch dargestellt ist. Zur statistischen Beurteilung der Korrelationen erfolgte daraufhin der Mann-Whitney-U-Rangsummen-Test.

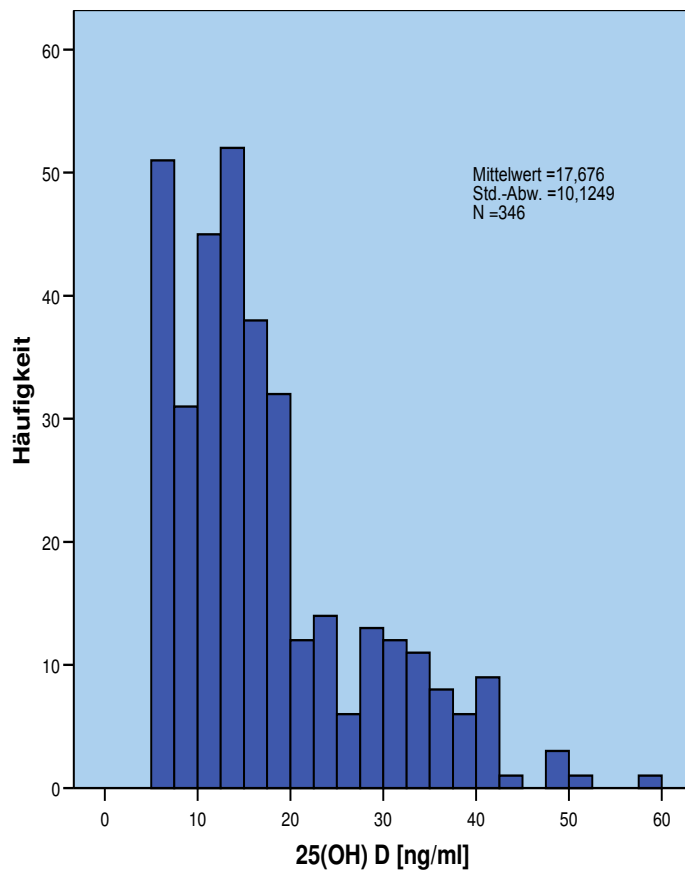


Abb. 11: Gesamtverteilung der Messwerte (25(OH)D-Serumspiegel)

4.2 Labor

Beantwortung der 1. Frage:

Haben Melanom-Patienten einen statistisch signifikant niedrigeren 25(OH)D-Serumspiegel verglichen mit einer Kontrollpopulation?

Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied der 25(OH)D-Serumkonzentrationen zwischen den Melanom-Patienten (Median: 14,3 ng/ml) und der Kontrollgruppe (Median: 15,6 ng/ml). Der p-Wert im Mann-Whitney-U-Rangsummen-Test betrug 0,44.

Gruppen	Statistische Werte	Serumspiegel 25(OH)D (ng/ml)
Melanom-Patienten	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	205 16,927 9,3443 14,300 7,0 58,8
Kontrollgruppe	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	141 18,765 11,1074 15,600 7,0 40,8
Gesamt	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	346 17,676 10,1249 14,750 7,0 58,8

Tab. 9: 25(OH)D-Serumspiegel der Melanom-Patienten vgl. mit der Kontrollgruppe

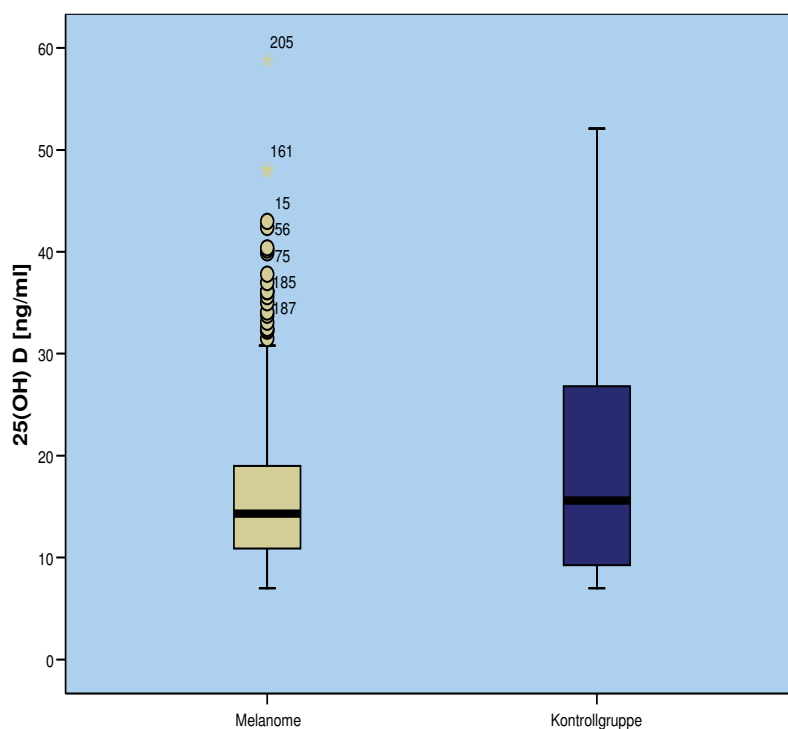


Abb. 12: 25(OH)D-Serumspiegel Melanome versus Kontrollgruppe

Beantwortung der 2. Frage:

Haben Melanom-Patienten im Spätstadium (Stadium IV) niedrigere 25(OH)D-Serumspiegel als solche im Frühstadium (Stadium I)? Kommt es im Verlauf der Melanomerkrankung (Progress) zu reduzierten 25(OH)D-Serumspiegeln?

Die Melanom-Patienten im Stadium IV hatten statistisch signifikant niedrigere 25(OH)D-Serumspiegel als Melanom-Patienten im Stadium I ($p=0,006$).

Stadium	Statistische Werte	Serumspiegel 25(OH)D (ng/ml)	Tumordicke (mm)
Ia	N	25	25
	Mittelwert	19,658	0,6323
	Standardabweichung	10,6116	0,26351
	Median	16,400	0,6000
	Minimum	7,8	0,15
	Maximum	43,0	1,00
Ib	N	25	24
	Mittelwert	18,683	1,3696
	Standardabweichung	7,0406	0,35178
	Median	16,400	1,4000
	Minimum	7,8	0,60
	Maximum	32,3	2,00
II	N	20	19
	Mittelwert	15,796	2,9868
	Standardabweichung	7,8340	2,93790
	Median	13,750	2,2000
	Minimum	7,0	0,88
	Maximum	40,4	14,00
III	N	20	14
	Mittelwert	16,762	2,8714
	Standardabweichung	28,7606	1,45532
	Median	14,850	2,9250
	Minimum	7,0	0,90
	Maximum	42,4	6,00
IV	N	115	78
	Mittelwert	16,177	3,6883
	Standardabweichung	9,7970	3,53054
	Median	13,100	2,5000
	Minimum	7,0	0,30
	Maximum	58,8	24,00
Gesamt	N	205	160
	Mittelwert	16,927	2,7068
	Standardabweichung	9,3443	2,94142
	Median	14,300	1,7000
	Minimum	7,0	0,15
	Maximum	58,8	24,00

Tab. 10: 25(OH)D-Serumspiegel und Tumordicke der Melanom-Patienten eingeteilt nach Tumorstadien

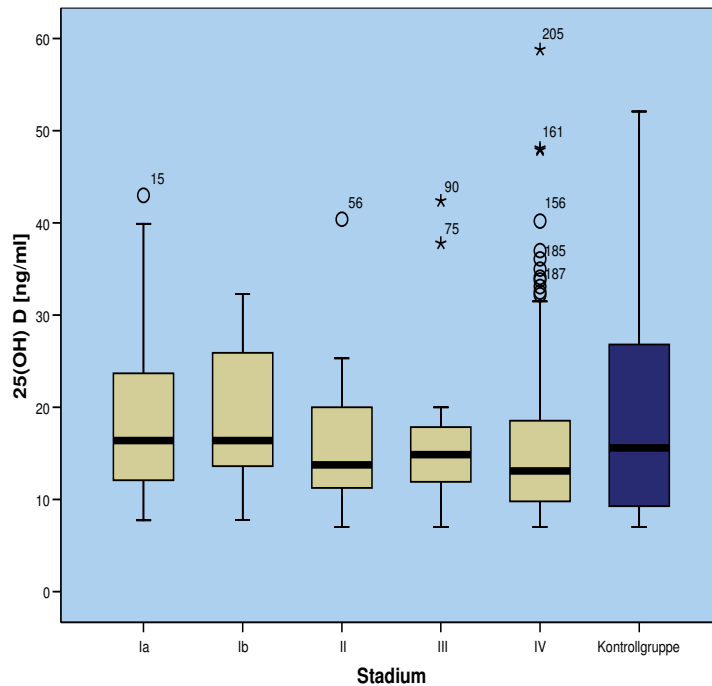


Abb. 13: 25(OH)D-Serumkonzentrationen der Melanom-Patienten eingeteilt nach Tumorstadien

Im Zentrum der Boxplot-Darstellung sind die Mediane dargestellt. Die Boxen repräsentieren die Werte, die innerhalb des 25.- und 75. Perzentils liegen.

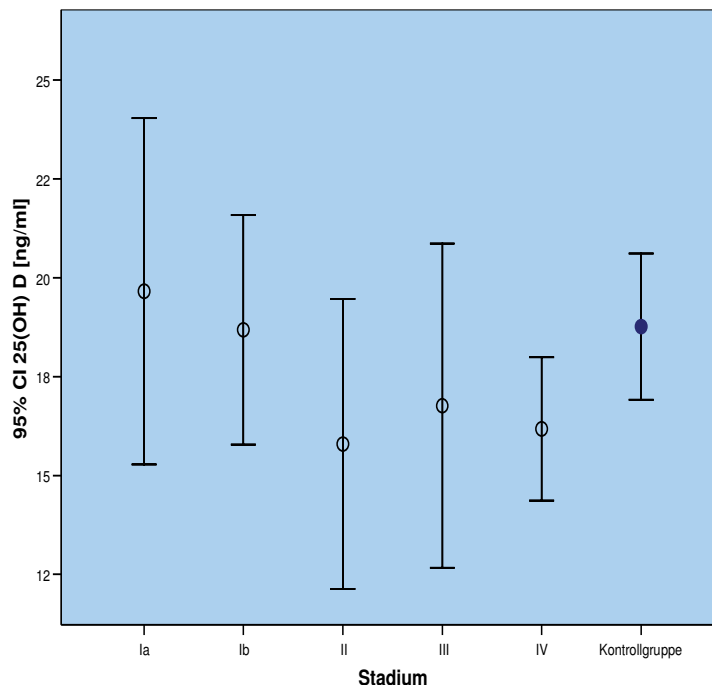


Abb. 14: 25(OH)D-Serumkonzentrationen der Melanom-Patienten eingeteilt nach Tumorstadien

Angegeben sind jeweils die 95%igen Konfidenzintervalle. Im Zentrum sind die Mittelwerte dargestellt.

Beantwortung der 3. Frage:

Existiert eine Korrelation zwischen der Tumordicke des malignen Melanoms und den 25(OH)D-Serumspiegeln? Haben Patienten mit niedrigem 25(OH)D eine höhere Tumordicke verglichen mit Patienten mit höherem 25(OH)D?

Es zeigt sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Tumordicke und den 25(OH)D-Serumwerten ($R^2_{\text{Linear}}=0,012$). Dennoch lässt sich aus dem Streudiagramm in Abbildung 15 ablesen, dass eine schwache Assoziation dieser Variablen besteht: bei geringen Tumordicken wurden etwas höhere 25(OH)D-Serumwerte bestimmt.

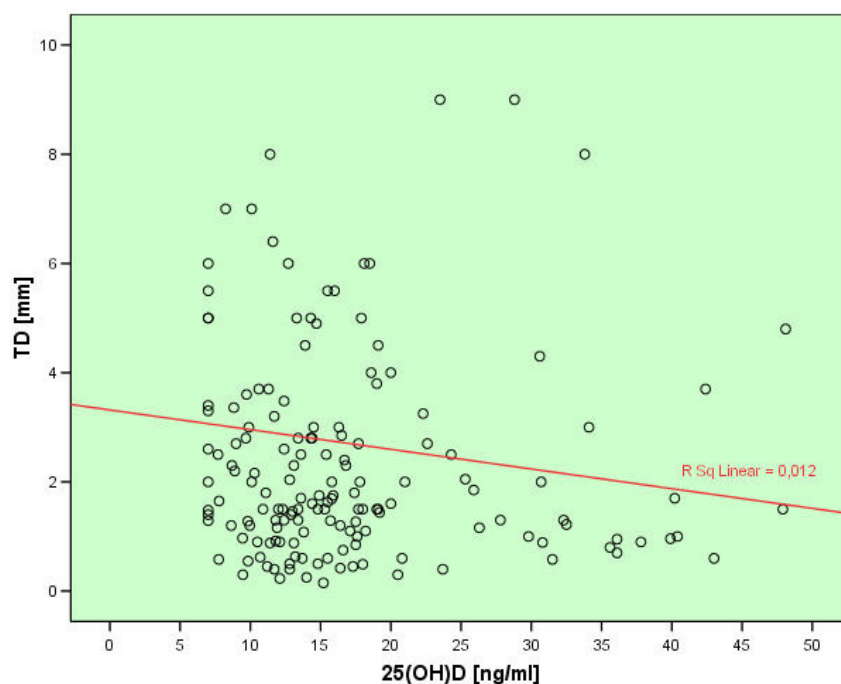


Abb. 15: Korrelation zwischen 25(OH)D-Serumspiegel und Tumordicke

Wenn man die Gesamtheit der Melanom-Patienten nach den 25(OH)D-Serumwerten in 3 Gruppen einteilt und die jeweiligen Mediane mit der Tumordicke vergleicht, wird die oben beschriebene Assoziation noch deutlicher: die Patientengruppe mit sehr niedrigen 25(OH)D-Serumwerten (<10 ng/ml) besaß eine höhere Tumordicke verglichen mit den Melanom-Patienten, die höhere 25(OH)D-Serumkonzentrationen aufwiesen (>20 ng/ml; $p=0,078$).

Vitamin D -Gruppen	Statistische Werte	Tumordicke (mm)
<10 ng/ml	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	28 3,00 2,323 2,55 0 11
10-20 ng/ml	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	97 2,76 3,299 1,63 0 24
>20 ng/ml	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	35 2,33 2,284 1,50 0 9

Tab. 11: Tumordicke der Melanom-Patienten eingeteilt nach 25(OH)D-Serumwerten

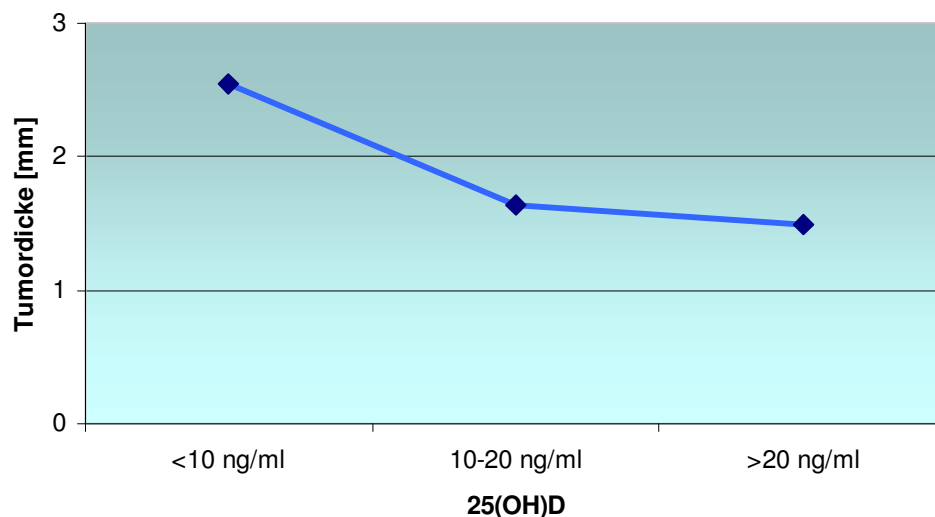


Abb. 16: Korrelation zwischen 25(OH)D-Serumspiegel und der Tumordicke

Beantwortung der 4. Frage:

Haben Patienten mit einer Tumordicke ≤ 1 mm höhere 25(OH)D-Serumwerte als solche mit einer Tumordicke >1 mm? Kommt es bei Patienten mit großer Tumordicke (>1 mm) schneller zum Progress der Erkrankung (Eintritt ins

Stadium III (Lymphknotenmetastasierung) bzw. ins Stadium IV (Fernmetastasierung)) als bei den Patienten, die dünne Melanome haben (≤ 1 mm)?

In unserem Kollektiv lag der mediane 25(OH)D-Serumspiegel der Patienten mit dünnen Melanomen (Tumordicke ≤ 1 mm) bei 15,35 ng/ml und war damit nur geringfügig höher als in der Patientengruppe mit tieferen Melanomen (Tumordicke > 1 mm) mit 14,30 ng/ml ($p=0,106$). Auch die Zeitspanne zwischen Primärexzision und ersten Lymphknotenmetastasen unterschied sich in diesen beiden Gruppen nicht statistisch signifikant (28,88 Monate (Tumordicke ≤ 1 mm) gegenüber 12,15 Monaten (Tumordicke > 1 mm; $p=0,362$). Ebenso verhielt es sich mit der Zeitspanne zwischen Primärexzision und ersten Fernmetastasen (77,55 Monate (Tumordicke ≤ 1 mm) gegenüber 31,50 Monaten (Tumordicke > 1 mm; $p=0,168$).

Melanome -Tumordicke- [mm]	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittel- wert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
≤ 1 mm	40	19,56	10,412	15,35	8	43
> 1 mm	120	16,05	8,233	14,30	7	48

Tab. 12: 25(OH)D-Serumspiegel nach Tumordicke (≤ 1 mm versus > 1 mm)

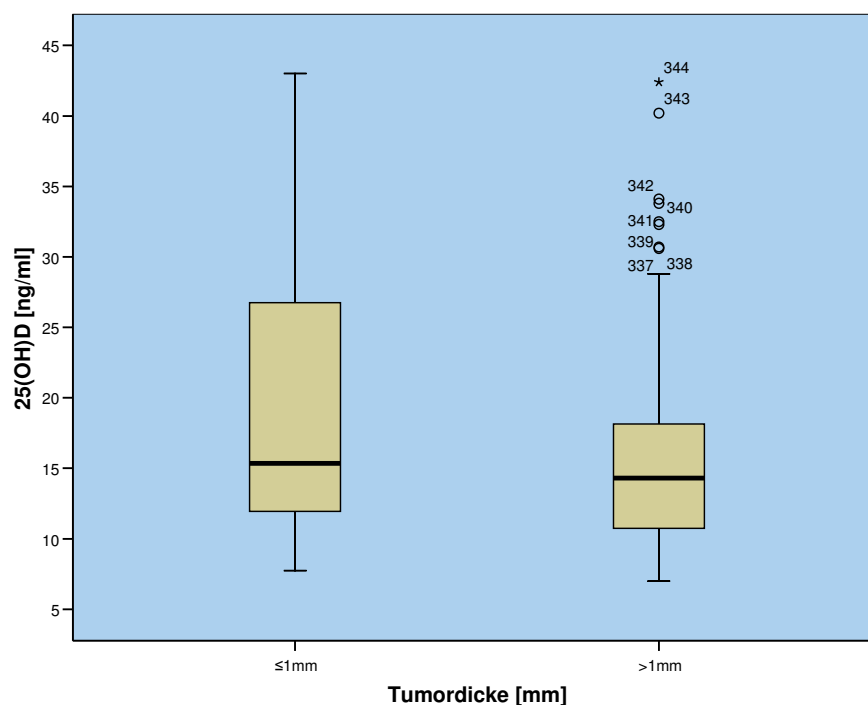


Abb. 17: 25(OH)D-Serumspiegel nach Tumordicke (≤ 1 mm versus > 1 mm)

Melanome -Tumordicke- (mm)	Statistische Werte	LK-Metastasen (Monate)	Fernmetastasen (Monate)
≤1mm	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	10 46,82 48,979 28,88 0 120	8 69,63 51,536 77,55 1 124
>1mm	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	8 24,17 33,486 12,15 0 198	73 41,77 38,561 31,50 0 198

Tab. 13: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastasierung in Gruppen verschiedener Tumordicken (≤1mm versus >1mm)

Beantwortung der 5. Frage:

Kommt es bei Patienten mit relativ niedrigen 25(OH)D-Serumwerten schneller zum Progress der Erkrankung (Eintritt ins Stadium III (Lymphknotenmetastasierung) bzw. Stadium IV (Fernmetastasierung)?

Es lässt sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den 25(OH)D-Serumwerten und dem Progress der Erkrankung feststellen. Als Progress wurde der Zeitraum zwischen der Exzision des Primarius (bzw. dem Zeitpunkt der Erstdiagnose) und dem ersten Auftreten von Lymphknotenmetastasen (Stadium III) bzw. einer manifesten Fernmetastasierung (Stadium IV) definiert. Hierzu wurden die Mediane der oben beschriebenen Vitamin D-Gruppen verglichen. Es ließen sich keine deutlichen Unterschiede ausmachen: während die Patienten mit höheren 25(OH)D-Serumspiegeln (>20 ng/ml) in unserem Kollektiv sogar nach kürzerer Zeit Lymphknotenmetastasen aufwiesen als die Patienten mit niedrigeren Werten (<10 ng/ml; p=0,283), erreichten sie das Stadium der Fernmetastasierung später später (p=0,641).

Vitamin D -Gruppen	Statistische Werte	LK-Metastasen (Monate)	Fernmetastasen (Monate)
<10 ng/ml	N	32	31
	Mittelwert	26,43	34,81
	Standardabweichung	32,758	35,497
	Median	17,75	24,37
	Minimum	0	0
	Maximum	122	128
10-20 ng/ml	N	79	66
	Mittelwert	27,84	41,58
	Standardabweichung	40,089	45,255
	Median	8,93	25,25
	Minimum	0	0
	Maximum	198	198
>20 ng/ml	N	25	21
	Mittelwert	22,86	42,14
	Standardabweichung	40,097	43,357
	Median	5,07	29,47
	Minimum	0	0
	Maximum	167	167

Tab. 14: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastasierung in den 3 Vitamin D-Gruppen

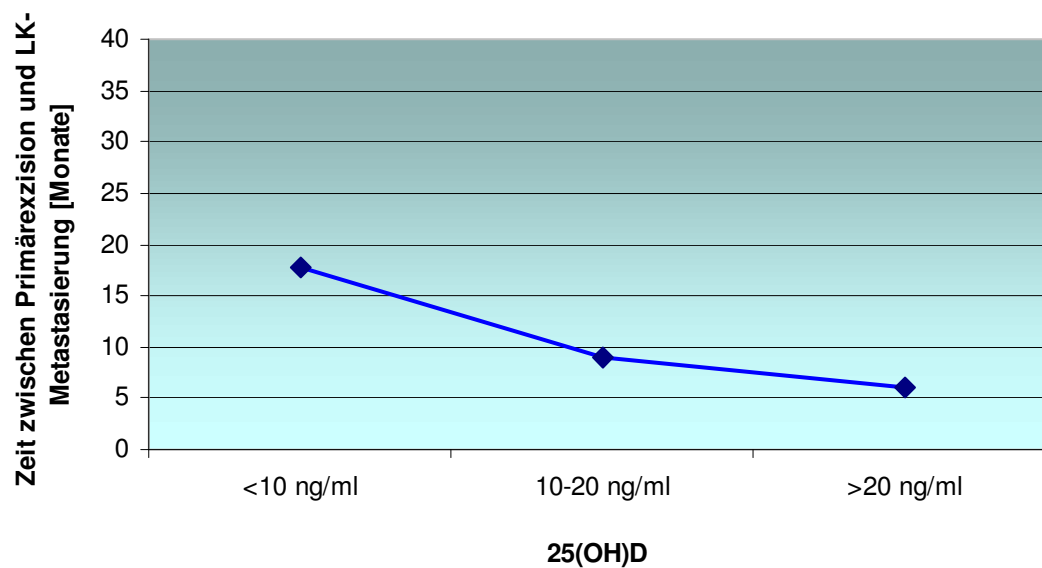


Abb. 18: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Lymphknotenmetastasierung in Monaten nach Vitamin D-Gruppen

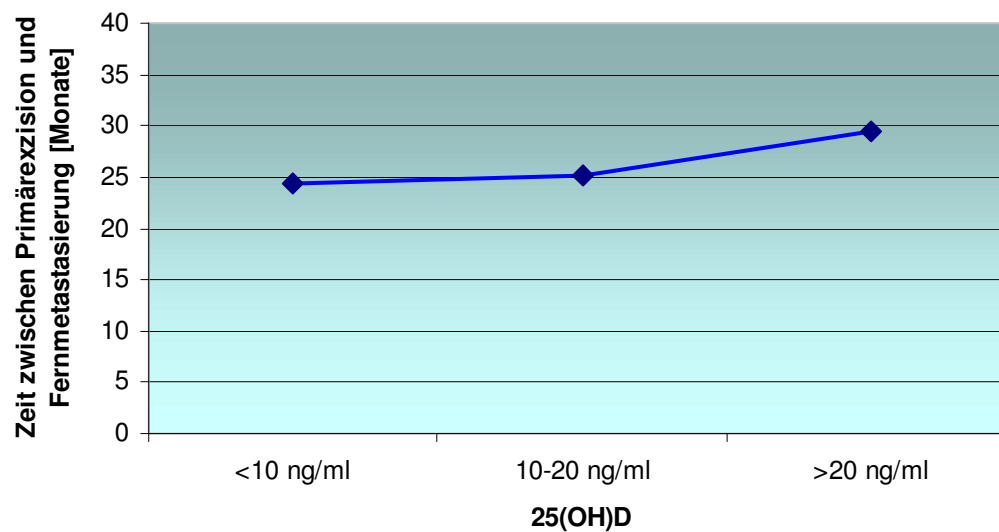


Abb. 19: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Fernmetastasierung in Monaten nach Vitamin D-Gruppen

Beantwortung der 6. Frage:

Beeinflusst der Diagnosezeitpunkt den Krankheitsverlauf des malignen Melanoms?

Zur Beantwortung dieser Frage wurden alle Melanom-Patienten nach der Jahreszeit ihrer Erstdiagnose in 4 Gruppen eingeteilt: **Winter** (1. Dez. – 28. bzw. 29. Febr.); **Frühling** (1. März – 31. Mai); **Sommer** (1. Juni – 31. Aug.); **Herbst** (1. Sept. – 30. Nov.). Verglichen wurden wiederum die Mediane dieser Gruppen bzgl. der Zeitintervalle zwischen Primärexzision und dem Auftreten von Lymphknoten- und Fernmetastasen. Die im Frühling und Herbst diagnostizierten Melanome zeigten zusammenfassend einen ungünstigeren Krankheitsverlauf im Vergleich mit den im Sommer und Winter diagnostizierten Melanomen. Sowohl das Tumorstadium III als auch IV wurden jeweils schneller erreicht; so betrug z.B. der Zeitraum zwischen Primärexzision und Lymphknotenmetastasierung bei den im Winter diagnostizierten Melanomen 16,40 Monate gegenüber 1,20 Monaten bei den im Herbst diagnostizierten Melanomen ($p=0,163$). Auch Fernmetastasen traten im Vergleich dieser beiden Gruppen unterschiedlich schnell auf: 25,93 Monate (Winter) gegenüber 14,20 Monate (Herbst); ($p=0,079$). Auch zwischen den Diagnosegruppen Sommer und Herbst bestanden deutliche Unterschiede bezüglich des Krankheitsverlaufes.

Eine Lymphknotenmetastasierung wurde bei den im Sommer diagnostizierten Melanomen nach 13,17 Monaten festgestellt (gegenüber 1,20 Monaten in der Herbstgruppe) ($p=0,486$) und zu einer Fernmetastasierung kam es nach 31,70 Monaten (gegenüber 14,20 Monaten in der Herbstgruppe); ($p=0,057$).

Jahreszeit bei Erstdiagnose	Statistische Werte	LK-Metastasen (Monate)	Fernmetastasen (Monate)
Winter	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	40 35,43 48,241 16,40 0 198	36 49,43 51,942 25,93 0 198
Frühling	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	34 24,00 36,608 3,7 0 121	26 40,60 46,125 21,57 0 187
Sommer	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	33 22,48 30,657 13,17 0 117	30 38,45 30,776 31,70 0 128
Herbst	N Mittelwert Standardabweichung Median Minimum Maximum	29 22,12 31,696 1,20 0 108	26 27,68 33,044 14,20 0 120

Tab. 15: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastasierung in Monaten nach Jahreszeit der Erstdiagnose

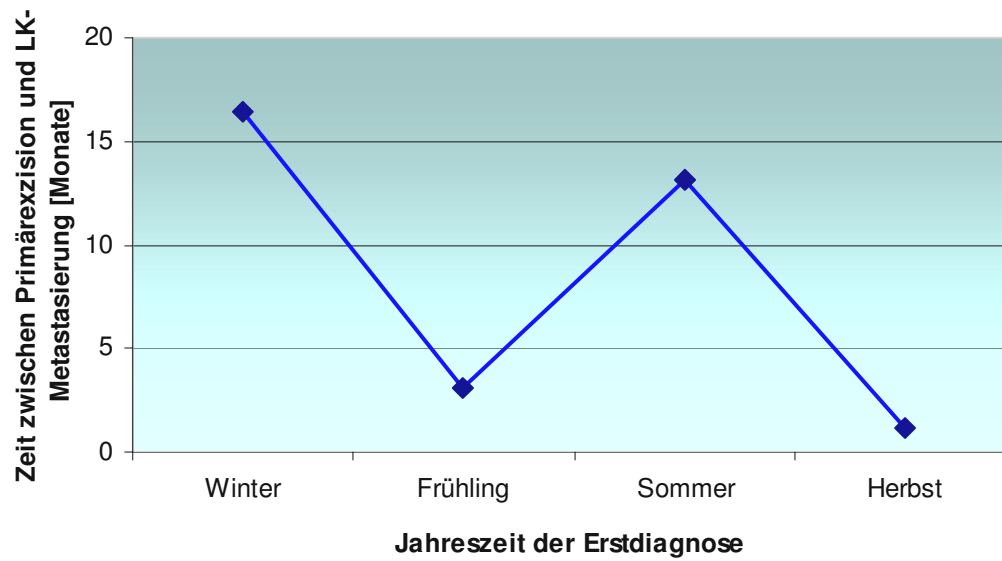


Abb. 20: Zeit zwischen Primärexzision und Lymphknotenmetastasierung in Monaten nach Jahreszeit der Erstdiagnose

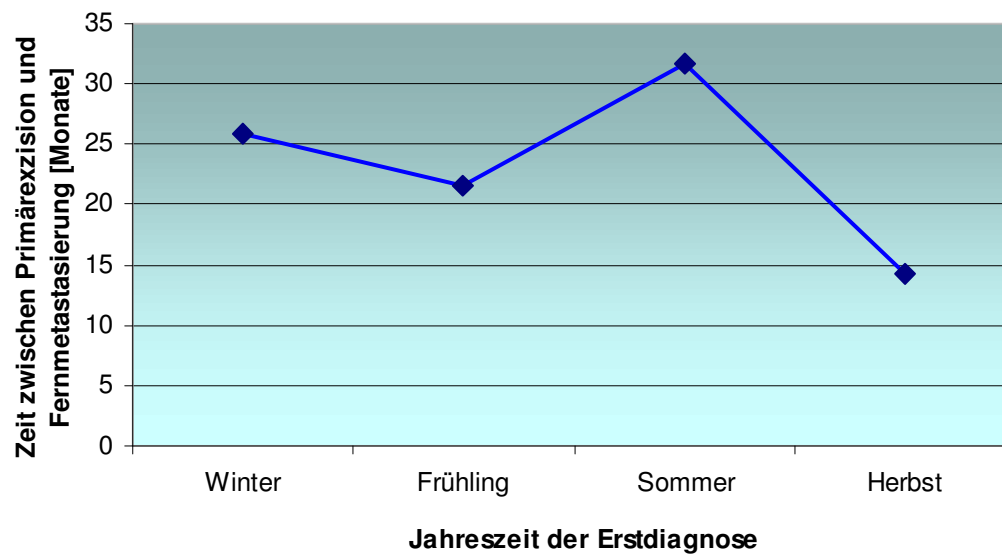


Abb. 21: Zeit zwischen Primärexzision und Fernmetastasierung in Monaten nach Jahreszeit der Erstdiagnose

Beantwortung der 7. Frage:

Ist ein Unterschied in der Tumordicke feststellbar in Bezug auf die Jahreszeit, in der das Melanom diagnostiziert wurde?

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Tumordicke beim Vergleich der Gruppen, die nach Jahreszeit der Erstdiagnose eingeteilt wurden. In diesem Studienkollektiv hatten jene Melanome die kleinste Tumordicke, die im Frühling diagnostiziert wurden (Median: 1,55 mm), während die im Sommer diagnostizierten Melanome mit 2,04 mm die größte Tumordicke aufwiesen ($p=0,349$).

Jahreszeit der Erstdiagnose	Tumordicke (mm)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Winter	36	3,1739	4,32024	2,0250	0,30	24,00
Frühling	44	2,1166	1,49922	1,5500	0,23	6,00
Sommer	41	2,9422	2,83397	2,0400	0,25	14,00
Herbst	34	2,9168	2,83014	1,7200	0,15	11,00

Tab. 16: Tumordicke nach Jahreszeit der Erstdiagnose

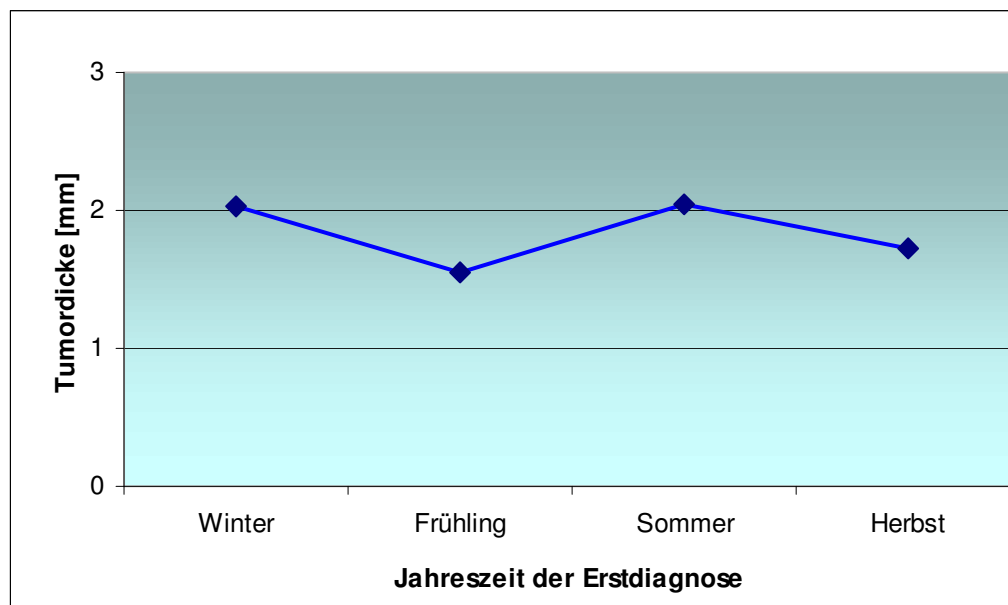


Abb. 22: Tumordicke nach Jahreszeit der Erstdiagnose

Beantwortung von Frage 8:

Sind jahreszeitliche Schwankungen der 25(OH)D-Serumspiegel in unserem Studienkollektiv erkennbar?

Die 25(OH)D-Serumspiegel waren im Herbst mit 19,15 ng/ml am höchsten und betrugen im Winter 13,25 ng/ml. Die tiefsten Werte wurden in den ersten Frühlingswochen mit 11,90 ng/ml gemessen. Der Mann-Whitney-U-Rangsummen-Test ergab bei der Korrelation der 25(OH)D-Serumwerte im Herbst und Frühling $p=0,0001$. Diese beiden Werte unterscheiden sich somit statistisch signifikant. In der Monatsaufschlüsselung wurden die höchste 25(OH)D-Serumkonzentrationen im Oktober gemessen (20,60 ng/ml) und die niedrigsten im April (10,35 ng/ml; $p=0,0001$); es ist ebenfalls statistische Signifikanz gegeben.

Jahreszeit der Erstdiagnose	25(OH)D Serumspiegel (mm)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Herbst	116	23,03	10,843	19,15	7	52
Winter	138	15,56	8,783	13,25	7	59
Frühling	92	14,10	8,230	11,90	7	48

Tab. 17: 25(OH)D Serumspiegel nach Jahreszeit der Erstdiagnose

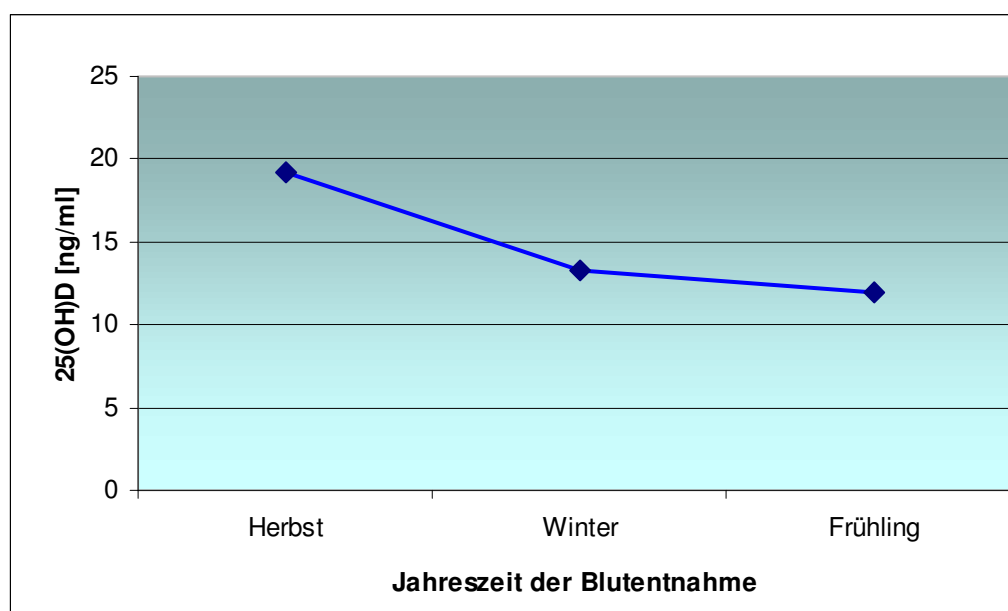


Abb. 23: 25(OH)D Serumspiegel nach Jahreszeit der Blutentnahme

Monat der Blutentnahme	25(OH)D-Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Oktober	86	23,12	10,305	20,60	7	43
November	30	22,76	12,447	17,40	7	52
Dezember	37	20,09	10,904	17,50	7	59
Januar	60	13,05	5,859	12,10	7	37
Februar	41	15,15	8,831	12,80	7	42
März	34	15,80	8,958	13,85	7	48
April	58	13,11	7,677	10,35	7	35

Tab. 18: 25(OH)D Serumspiegel nach Monat der Blutentnahme

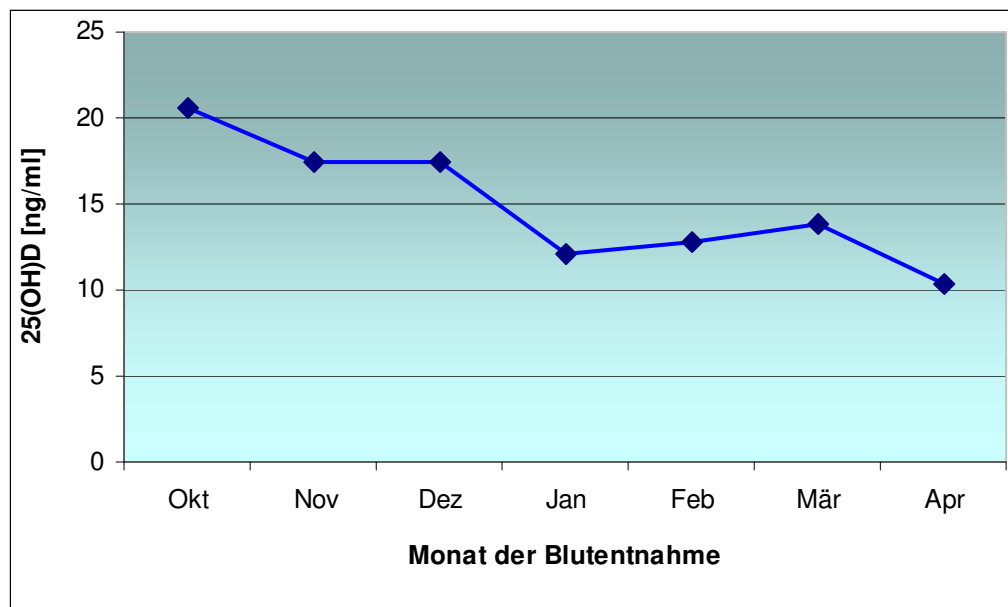


Abb. 24: 25(OH)D Serumspiegel nach Monat der Blutentnahme

Beantwortung der 9. Frage:

Sind altersspezifische Unterschiede der 25(OH)D-Serumspiegel im Studienkollektiv erkennbar?

Die Probanden wurden in drei Altersgruppen eingeteilt (14-34 Jahre; 35-64 Jahre und ≥ 65 Jahre). Hier zeigten sich zwar keine statistisch signifikanten Unterschiede der 25(OH)D-Serumkonzentrationen, wenngleich bei den Melanom-Patienten mit zunehmendem Alter ein Trend zu geringeren 25(OH)D-Serumspiegeln erkennbar

war: im Vergleich der 14-34-Jährigen und der >65-Jährigen ergab sich beim Korrelationstest ein p-Wert von 0,053.

Altersgruppe (Jahre)	N	Prozent (%)
14-34 Jahre	50	15
35-64 Jahre	174	50
≥65 Jahre	122	35
Gesamt	346	100

Tab. 19: Altersverteilung im Gesamtkollektiv

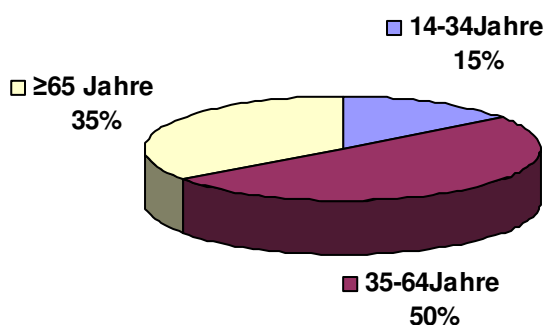


Abb. 25: Altersverteilung im Gesamtkollektiv

Alter (Jahre)	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
14-34 Jahre	50	17,979	10,2830	14.800	7,0	42,4
35-64 Jahre	174	18,121	10,3288	15,000	7,0	58,8
≥65 Jahre	122	16,917	9,7999	14,400	7,0	52,1
Gesamt	346	17,676	10,1249	14,750	7,0	58,8

Tab. 20: 25(OH)D-Serumwerte nach Altersgruppen im Gesamtkollektiv

Alter (Jahre)	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
14-34 Jahre						
Melanome	10	21,870	12,2935	16,950	7,7	42,4
Kontrollgruppe	40	17,07	9,6500	14,200	7,0	38,3
35-64 Jahre						
Melanome	108	17,954	1,0183	14,600	7,0	58,8
Kontrollgruppe	66	18,395	10,8905	15,900	7,0	41,0
≥65 Jahre						
Melanome	87	15,084	7,6702	13,800	7,0	43,0
Kontrollgruppe	35	21,474	12,7670	16,300	7,0	52,1
Gesamt						
Melanome	205	14,300	9,344	14,300	7,0	58,8
Kontrollgruppe	141	15,600	11,1074	15,600	7,0	40,8

Tab. 21: 25(OH)D-Serumwerte nach Altersgruppen Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe

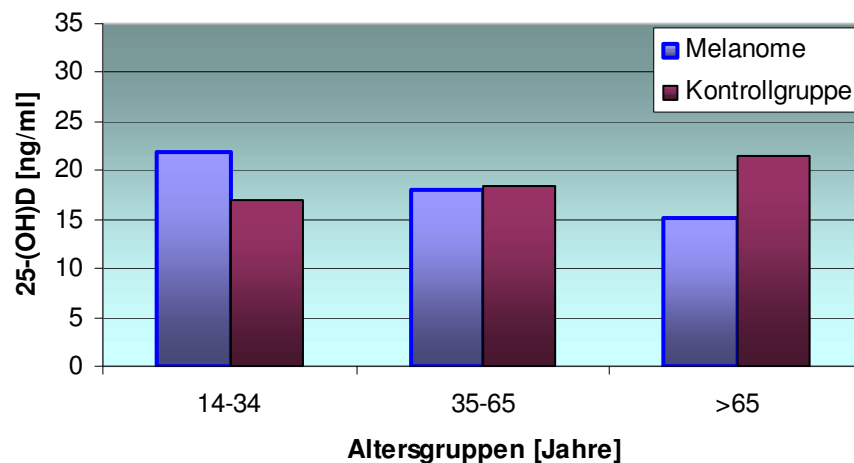


Abb. 26: 25(OH)D-Serumwerte nach Altersgruppen, Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe

Beantwortung der 10. Frage:***Sind geschlechtsspezifische Unterschiede der 25(OH)D-Serumspiegel im Studienkollektiv erkennbar?***

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede des 25(OH)D-Serumspiegels zwischen Männern und Frauen. Bei den weiblichen Individuen war jedoch ein Trend zu niedrigeren 25(OH)D-Werten bei den Melanom-Patienten im Vergleich zu der Kontrollgruppe sichtbar ($p=0,064$), während die männlichen Melanom-Patienten sogar etwas höhere 25(OH)D-Werte als die Kontrollgruppe aufwiesen ($p=0,391$).

Geschlecht	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Männlich	173	18,027	11,2506	13,90	7,0	55,8
Weiblich	173	17,326	8,8770	15,400	7,0	42,4

Tab. 22: Geschlechterverteilung im Gesamtkollektiv

Männer	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Melanome	113	17,845	10,5978	14,400	7,0	58,8
Kontrollgruppe	60	18,370	12,6978	13,200	7,0	52,1

Tab. 23: Männliche Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe

Frauen	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Melanome	92	15,800	7,5621	14,00	7,0	42,4
Kontrollgruppe	81	19,058	9,9327	16,300	7,0	40,8

Tab. 24: Weibliche Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe

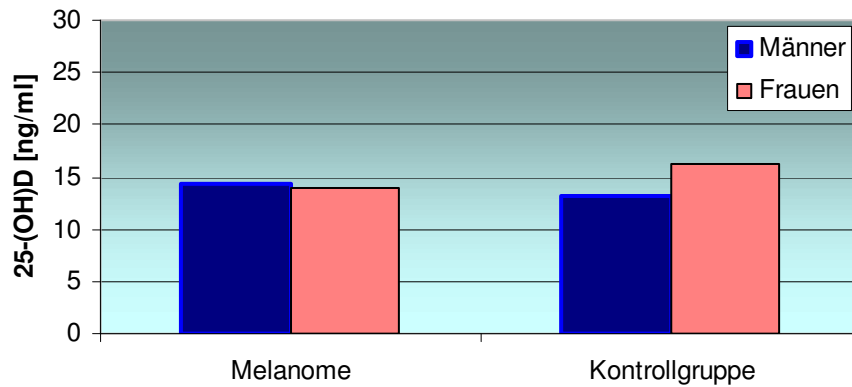


Abb. 27: 25(OH)D-Serumwerte der Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe nach Geschlecht

Beantwortung von Frage 11:

Korreliert der 25(OH)D-Serumspiegel mit dem Body mass index (BMI) der Melanom-Patienten bzw. der gesunden Individuen?

Zunächst wurden die Studienteilnehmer nach den Werten des Body mass index in 4 Gruppen eingeteilt. Es lässt sich sowohl bei den Melanom-Patienten als auch bei den gesunden Individuen erkennen, dass die niedrigsten 25(OH)D-Serumspiegel in der Gruppe der sehr schlanken (BMI <20 kg/m²) und stark übergewichtigen Individuen (≥30 kg/m²) bestimmt wurden, wenngleich keine statistische Signifikanz gegeben war.

BMI-Gruppen (kg/m ²)	N	Prozent (%)
<20 kg/m ²	7	6%
20-24 kg/m ²	46	39%
25-29 kg/m ²	45	38%
≥30 kg/m ²	21	18%
Gesamt	119	100%

Tab. 25: Häufigkeiten der BMI-Gruppen gesamt

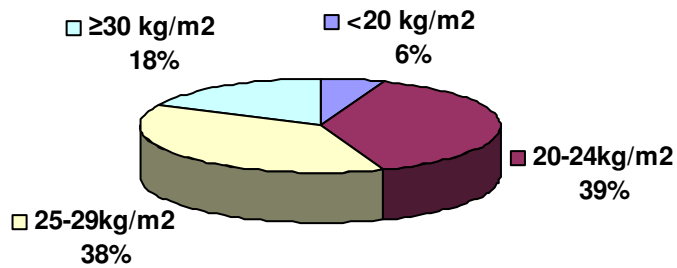


Abb. 28: Häufigkeiten der BMI-Gruppen gesamt

BMI-Gruppen	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
<20 kg/m ²	7	13,120	9,3233	9,840	7,0	32,9
20-24 kg/m ²	46	14,465	7,8268	12,700	7,0	32,9
25-29 kg/m ²	45	14,495	8,3883	12,400	7,0	43,0
≥30 kg/m ²	21	14,123	8,5110	11,800	7,0	35,6
Gesamt	119	14,337	8,1491	12,400	7,0	43,0

Tab. 26: 25(OH)D-Serumspiegel der BMI-Gruppen gesamt

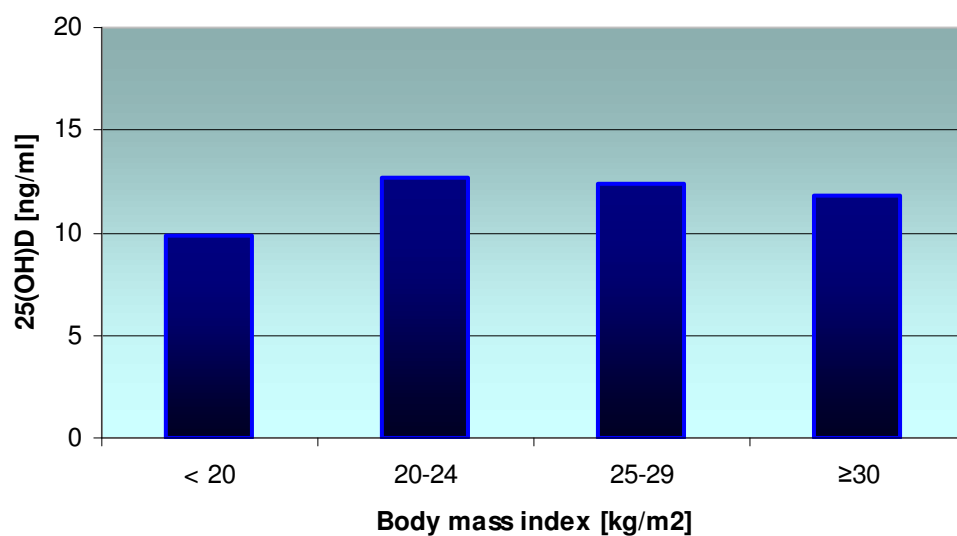


Abb. 29: 25(OH)D-Serumspiegel nach BMI-Gruppen, gesamt

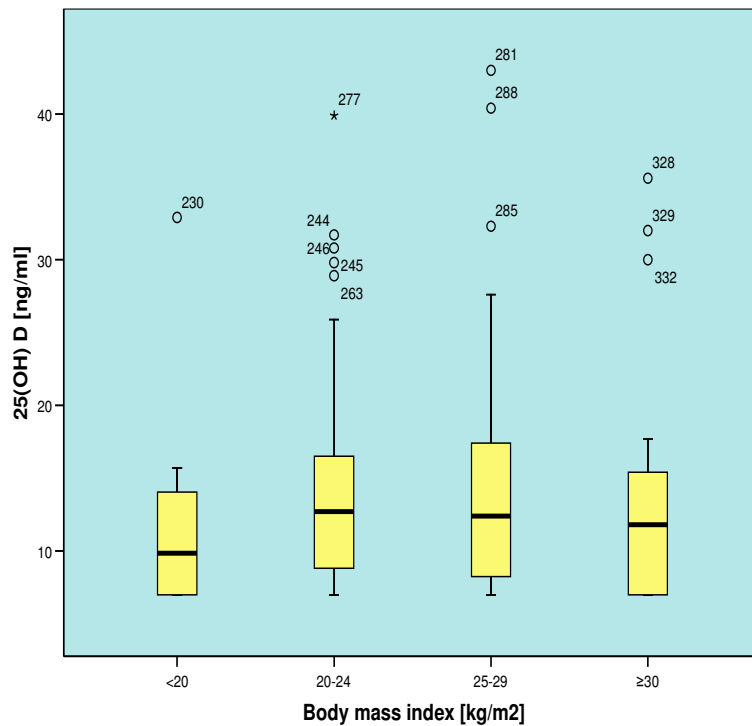


Abb. 30: 25(OH)D-Serumspiegel nach BMI-Gruppen, gesamt

Im Zentrum der Boxplot-Darstellung sind die Mediane dargestellt. Die Boxen repräsentieren die Werte, die sich innerhalb des 25.- und 75. Perzentils befinden.

BMI-Gruppen	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
<20 kg/m ²	2	12,77	4,1436	12,770	9,8	15,7
20-24 kg/m ²	26	16,260	7,8345	14,550	7,0	39,9
25-29 kg/m ²	33	15,702	8,9199	12,800	7,0	43,0
≥30 kg/m ²	16	14,093	8,2265	12,600	7,0	35,6
Gesamt	77	15,480	8,2524	14,300	7,0	43,0

Tab. 27: 25(OH)D-Serumspiegel der Melanom-Patienten nach BMI-Gruppen

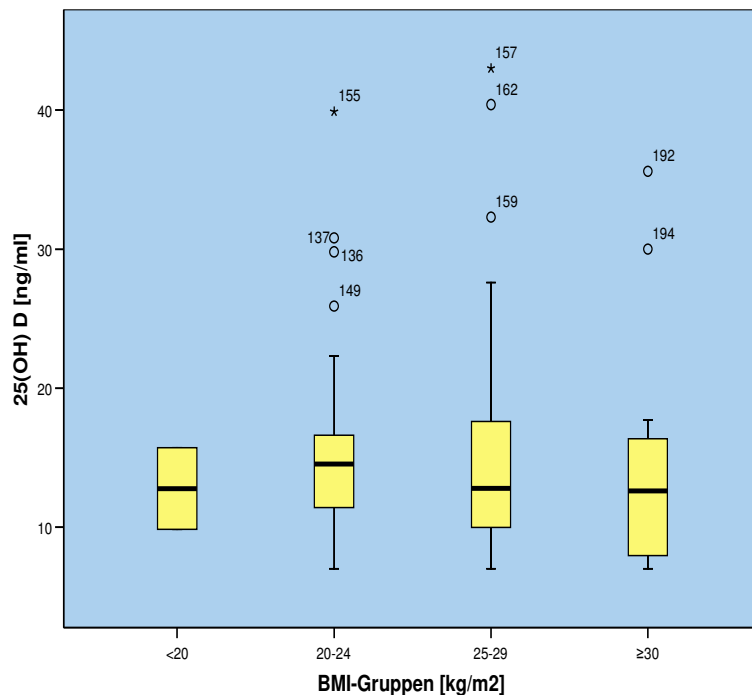


Abb. 31: 25(OH)D-Serumkonzentrationen nach BMI-Gruppen, nur Melanome

Im Zentrum der Boxplot-Darstellung sind die Mediane dargestellt. Die Boxen repräsentieren die Werte, die innerhalb des 25.- und 75. Perzentils liegen.

4.3 Lichtfragebogen

Die folgenden Ergebnisse beziehen sich auf die Auswertung der Sonnenlichtfragebögen. Insgesamt wurden 100 Fragebögen ausgewertet (Melanome: n=58; Kontrollgruppe: n=42). Der Anteil der Frauen lag bei n=45, der der Männer bei n=55.

Beantwortung von Frage 12:

Besteht ein Zusammenhang zwischen dem Hauttyp und dem 25(OH)D-Serumspiegel? Hatten Patienten mit hellem Hauttyp (Hauttyp 1 und 2 nach Fitzpatrick) geringere 25(OH)D-Serumspiegel als Patienten mit dunkler Pigmentierung (Hauttyp 3 und 4)?

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen dem Hauttyp der Patienten und dem 25(OH)D-Serumspiegel.

Hauttyp nach Fitzpatrick	N	Prozent (%)
1	8	8
2	47	47
3	38	38
4	7	7
Gesamt	100	100

Tab. 28: Verteilung nach Hauttyp gesamt

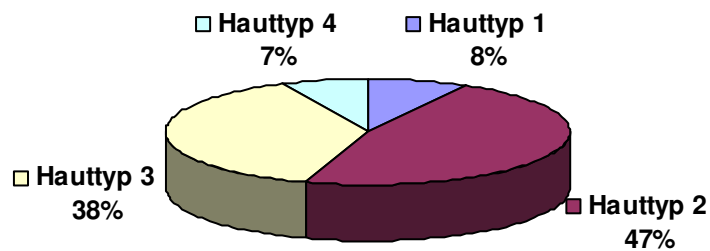


Abb. 32: Verteilung nach Hauttyp gesamt

Hauttyp nach Fitzpatrick	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
1	8	13,874	3,2486	13,85	9,9	20,0
2	47	16,463	8,5760	14,30	7,0	39,9
3	38	15,197	10,0992	11,65	7,0	43,0
4	7	17,243	7,0327	15,30	11,7	32,3
Gesamt	100	18,43	10,552	15,00	7,0	59,0

Tab. 29: Korrelation zwischen Hauttyp nach Fitzpatrick und 25(OH)D-Serumspiegel gesamt

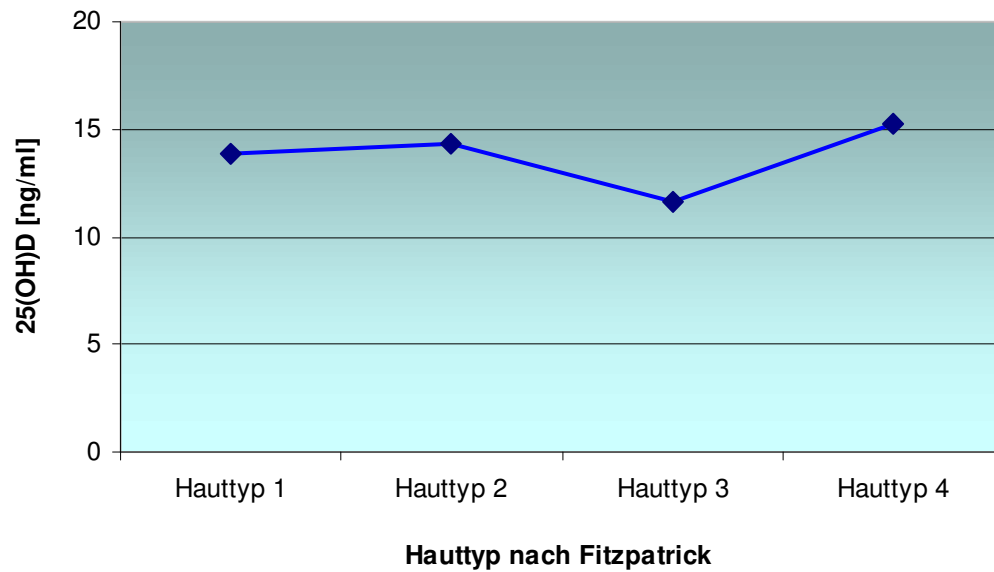


Abb. 33: Korrelation zwischen Hauttyp nach Fitzpatrick und 25(OH)D-Serumspiegel gesamt

Hauttyp nach Fitzpatrick	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
1	7	13,88	3,509	13,90	10	20
2	31	18,04	8,098	15,50	8	40
3	14	21,76	11,357	16,85	9	43
4	6	17,97	7,413	16,45	12	32
Gesamt	58	18,43	8,684	15,75	8	43

Tab. 30: Korrelation zwischen Hauttyp nach Fitzpatrick und 25(OH)D-Serumspiegel, nur Melanom-Patienten

Hauttyp nach Fitzpatrick	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
1	1	13,80	0	13,80	14	14
2	16	13,41	8,906	9,49	7	33
3	24	11,37	7,048	7,00	7	32
4	1	12,90	0	12,90	13	13
Gesamt	42	12,24	7,611	8,16	7	33

Tab. 31: Korrelation zwischen Hauttyp nach Fitzpatrick und 25(OH)D-Serumspiegel, nur Kontrollgruppe

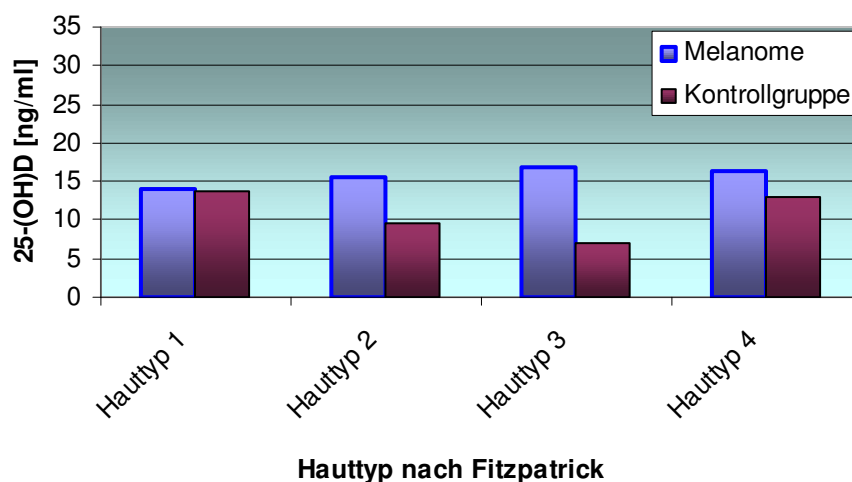


Abb. 34: Korrelation zwischen Hauttyp nach Fitzpatrick und 25(OH)D-Serumspiegel bei Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe

Beantwortung von Frage 13:

Besteht ein Zusammenhang zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel?

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel. Dennoch hatten die Patienten, die sich an keinen Sonnenbrand erinnern konnten, die niedrigsten 25(OH)D-Serumkonzentrationen, während die höchsten Werte bei denen bestimmt wurden, die >10 Sonnenbrände angaben.

Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände	N	Prozent (%)
Keinen	19	19,2
1mal	15	15,2
2-4mal	22	22,2
5-10mal	22	22,2
mehr als 10mal	21	21,2
Gesamt	99	100

Tab. 32: Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände gesamt

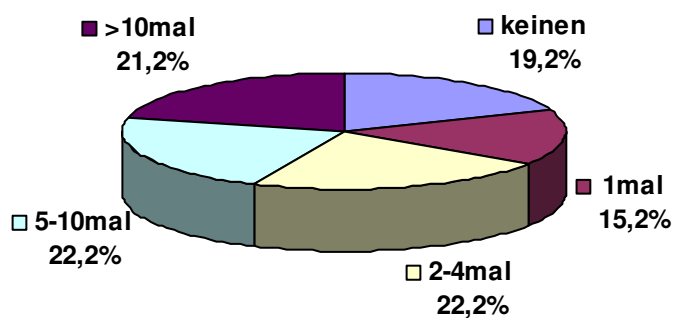


Abb. 35: Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände gesamt

Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Keinen	19	16,22	8,442	13,20	7	32
1mal	15	18,08	12,225	14,50	7	43
2-4mal	22	17,69	10,657	15,15	7	40
5-10mal	22	12,15	5,927	9,96	7	28
mehr als 10mal	21	15,74	5,725	15,50	7	31

Tab. 33: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel gesamt

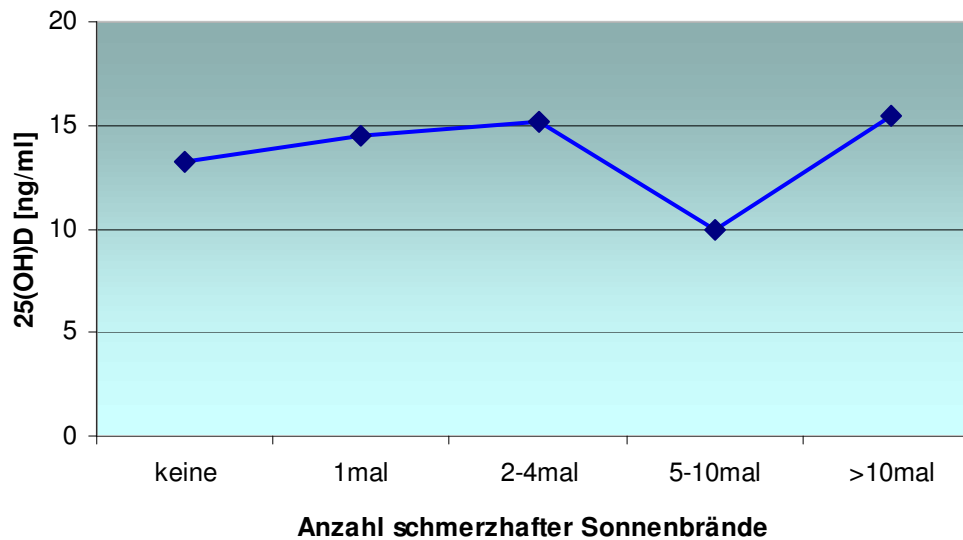


Abb. 36: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel gesamt

Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Keinen	7	15,56	6,873	13,20	10	30
1mal	7	23,28	13,369	15,70	9	43
2-4mal	14	22,04	10,865	18,80	9	40
5-10mal	11	15,09	6,257	14,00	8	28
mehr als 10mal	18	17,00	5,132	16,05	11	31

Tab. 34: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel, nur Melanome

Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Keinen	12	16,61	9,508	13,60	7	32
1mal	8	13,53	9,746	8,13	7	33
2-4mal	8	10,07	4,154	7,22	7	16
5-10mal	11	9,22	3,961	7,00	7	20
mehr als 10mal	3	8,0	2,078	7,00	7	11

Tab. 35: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel, nur Kontrollgruppe

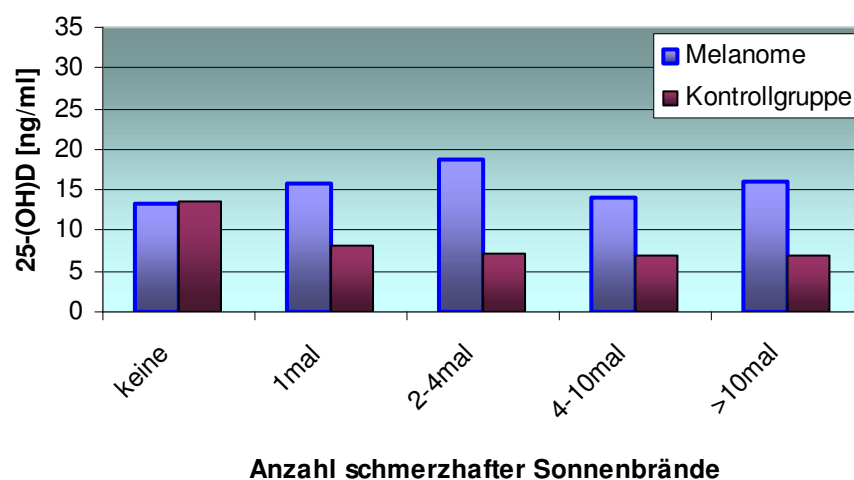


Abb. 37: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel Melanome versus Kontrollgruppe

Beantwortung von Frage 14:

Besteht ein Zusammenhang zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel?

Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel.

Gebrauch von Sonnenschutzprodukten	N	Prozent (%)
Regelmäßig	44	44
Gelegentlich	33	33
Nie	23	23
Gesamt	100	100

Tab. 36: Gebrauch von Sonnenschutzprodukten im Gesamtkollektiv

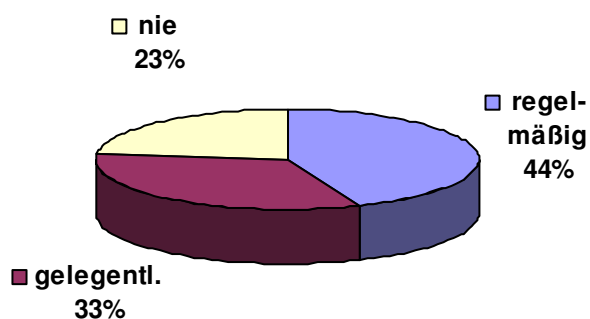


Abb. 38: Gebrauch von Sonnenschutzprodukten im Gesamtkollektiv

Gebrauch von Sonnenschutz-Produkten	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittelwert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Regelmäßig	44	16,49	7,504	15,00	7	33
Gelegentlich	33	15,53	10,416	12,30	7	40
Nie	23	14,99	8,726	13,20	7	43
Gesamt	100	15,83	8,765	13,85	7	43

Tab. 37: Beziehung zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel im Gesamtkollektiv

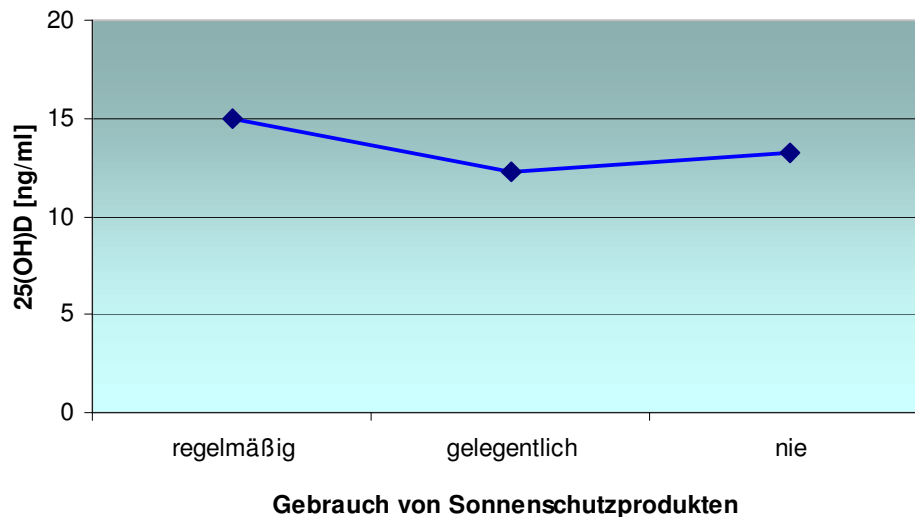


Abb. 39: Korrelation zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel gesamt

Gebrauch von Sonnenschutz-Produkten	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittel-wert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Regelmäßig	31	17,50	6,994	15,50	8	32
Gelegentlich	15	21,72	11,079	17,30	9	40
Nie	12	16,71	8,987	15,35	10	43
Gesamt	58	18,43	8,684	15,75	8	43

Tab. 38: Korrelation zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel, nur Melanome

Gebrauch von Sonnenschutz-Produkten	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittel-wert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
Regelmäßig	13	14,09	11,226	11,50	7	33
Gelegentlich	18	10,38	6,420	7,00	7	32
Nie	11	13,11	8,440	7,44	7	32
Gesamt	42	12,24	7,611	8,16	7	33

Tab. 39: Korrelation zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel, nur Kontrollgruppe

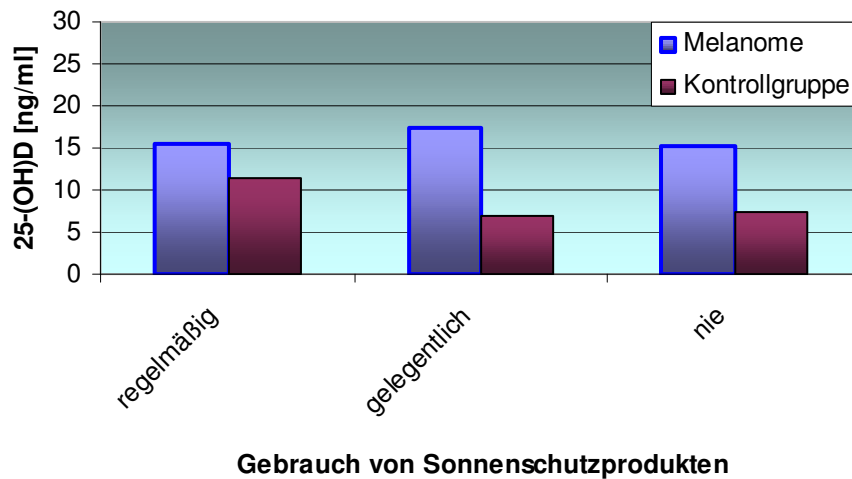


Abb. 40: Korrelation zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel Melanome versus Kontrollgruppe

Beantwortung von Frage 15:

Besteht ein Zusammenhang zwischen der Sonnenexposition in den letzten beiden Jahren und dem 25(OH)D-Serumspiegel?

Es bestand sowohl im Gesamtkollektiv als auch bei den Melanom-Patienten eine deutliche Korrelation zwischen der Sonnenexposition in den letzten beiden Jahren und dem 25(OH)D-Serumspiegel. In der Gruppe der Patienten, die weniger als 50 Stunden Sonnenexposition in den beiden vergangenen Jahren angaben, betrug der Median des 25(OH)D-Serumspiegels 8,16 ng/ml, während bei einer Sonnenexposition >150 Stunden der Median bei 25,90 ng/ml lag ($p=0,001$).

Sonnenexposition in den letzten 2 Jahren (Tage)	N	Prozent (%)
0-50 Tage	20	20
51-100 Tage	40	40
101-150 Tage	29	29
>150 Tage	11	11
Gesamt	100	100

Tab. 40: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre gesamt

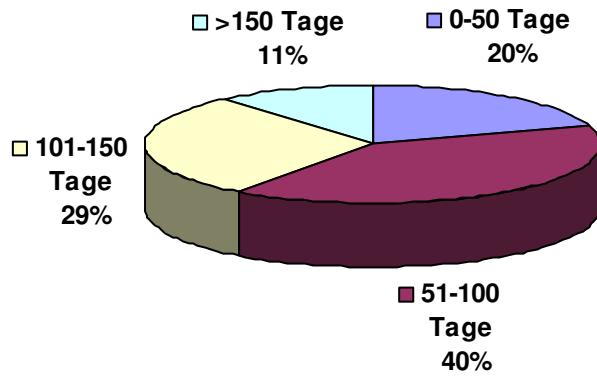


Abb. 41: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre gesamt

Sonnen- exposition in den letzten 2 Jahren (Tage)	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittel- wert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
0-50 Tage	20	10,12	3,746	8,16	7	18
51-100 Tage	40	13,01	5,539	12,65	7	31
101-150 Tage	29	19,98	8,366	17,60	7	36
> 150 Tage	11	25,53	12,964	25,90	7	43
Gesamt	100	15,83	8,765	13,85	7	43

Tab. 41: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre gesamt

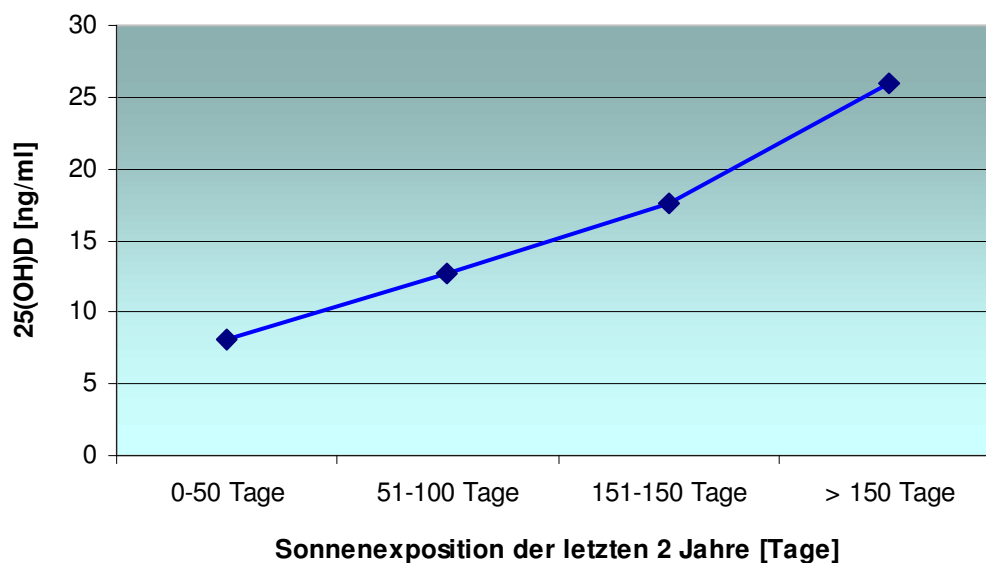


Abb. 42: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre gesamt

Sonnen- exposition in den letzten 2 Jahren (Tage)	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittel- wert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
0-50 Tage	7	14,11	2,993	13,60	10	18
51-100 Tage	26	14,91	5,603	13,65	8	31
101-150 Tage	18	20,43	8,080	16,95	9	36
>150 Tage	7	30,67	11,375	32,30	13	43
Gesamt	58	18,43	8,684	15,75	8	43

Tab. 42: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre, nur Melanome

Sonnen- exposition in den letzten 2 Jahren (Tage)	25(OH)D Serumspiegel (ng/ml)					
	N	Mittel- wert	Std.-Abw.	Median	Minimum	Maximum
0-50 Tage	13	7,79	1,850	7	7	12
51-100 Tage	14	9,49	3,328	7	7	16
101-150 Tage	11	19,24	9,166	19,10	7	32
>150 Tage	4	16,53	11,472	13,10	7	33
Gesamt	42	12,24	7,611	8,16	7	33

Tab. 43: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre, nur Kontrollgruppe

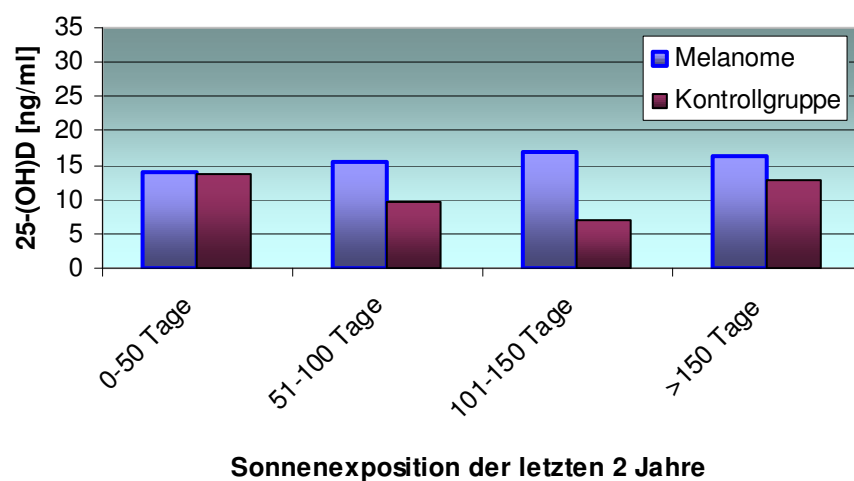


Abb. 43: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre, Melanome versus Kontrollgruppe

5. Diskussion

Garland postulierte Anfang der achtziger Jahre anhand von epidemiologischen Studien eine Bedeutung des Vitamin D-Status' für die Inzidenz und Mortalität des Kolonkarzinoms (Garland und Garland, 1980). In der Folge wurden vielfältige Untersuchungen zur Bedeutung des Vitamin D-Status' bei unterschiedlichen Krebserkrankungen durchgeführt, wobei diese Studien entweder auf der Abschätzungen der individuellen UV-Exposition oder auf der Bestimmung von Metaboliten des Vitamin D-Stoffwechsels im Blut basierten. Die vorliegende Studie reiht sich hier ein und untersucht als retrospektive Verlaufsbeobachtung bei 205 Melanom-Patienten und 141 gesunden Kontrollpersonen eine mögliche Relevanz des Vitamin D-Status' für die Pathogenese und den Krankheitsverlauf dieser Tumorerkrankung.

In einer 2004 publizierten Pilotstudie an unserer Klinik ergaben sich keine Hinweise auf erniedrigte 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel (25(OH)D) bei Melanom-Patienten im Stadium I zum Diagnosezeitpunkt (Reichrath und Querings, 2004).

In der hier vorliegenden Arbeit zeigt sich bei der Betrachtung der Melanom-Patienten als Gesamtheit ebenfalls kein signifikanter Unterschied der 25(OH)D-Serumkonzentrationen (Median=14,3 ng/ml) im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Median=15,6 ng/ml, $p=0,44$). Werden die Melanom-Patienten nach ihren Tumorstadien unterteilt (nach der AJCC 2001, s.S. 38 ff.), ergeben sich für die Patienten in den Stadien I-III ebenfalls keine signifikanten Unterschiede der 25(OH)D-Serumkonzentrationen im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Stad. II: $p=0,502$; Stad. III: $p=0,849$). Als wichtigster prognostischer Faktor beim malignen Melanom gilt die vertikale Tumordicke nach Breslow. Wir haben in dieser Studie auch untersucht, inwieweit eine Korrelation mit dem 25(OH)D-Serumspiegel gegeben ist. Hier zeigte sich nur eine schwache Beziehung zwischen beiden Variablen (vgl. Streudiagramm auf S. 71 ff.). Wenn allerdings die Melanom-Patienten nach der Höhe ihrer 25(OH)D-Serumkonzentrationen in drei Gruppen eingeteilt wurden, ließen sich erkennbare, wenn auch nicht statistisch signifikante Unterschiede objektivieren: die Patientengruppe mit sehr niedrigen 25(OH)D-Serumwerten (<10 ng/ml) besaß eine höhere Tumordicke verglichen mit den Melanom-Patienten, die höhere 25(OH)D-Serumkonzentrationen aufwiesen (>20 ng/ml). Die jeweiligen Mediane der Tumordicken betrugen: 2,55 mm gegenüber 1,50 mm ($p=0,078$). Auch wenn man die

Melanom-Patienten nach ihrer Tumordicke in zwei Gruppen einteilte (≤ 1 mm versus > 1 mm), ergaben sich keine signifikanten Unterschiede des 25(OH)D-Serumspiegels (15,35 ng/ml gegenüber 14,30 ng/ml; $p=0,106$). Des Weiteren überprüften wir, ob sich diese beiden Gruppen hinsichtlich des Krankheitsverlaufes unterschieden. Als Maßstab nahmen wir die Zeitspanne zwischen der Primärexzision des Tumors und der ersten Lymphknotenmetastasierung (Stadium III) bzw. der ersten Fernmetastasierung (Stadium IV). Aber auch hier waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zu erkennen. Zusammenfassend stellen wir daher fest, dass die Tumordicke in unserem Studienkollektiv kein zuverlässiger Vorhersagewert für den Krankheitsverlauf ist und nicht signifikant mit dem 25(OH)D-Serumspiegel korreliert.

Darüber hinaus überprüften wir, ob anhand der 25(OH)D-Serumwerte eine Aussage über den Krankheitsverlauf des malignen Melanoms gemacht werden kann. Wiederum korrelierten wir die oben beschriebenen „Vitamin D-Gruppen“ mit den Zeitspannen bis zur ersten Lymphknoten- bzw. Fernmetastasierung. Auch hier ließen sich keine deutlichen Unterschiede ausmachen: während die Patienten mit höheren 25(OH)D-Serumspiegeln (> 20 ng/ml) in unserem Kollektiv sogar nach kürzerer Zeit Lymphknotenmetastasen aufwiesen als die Patienten mit niedrigeren Werten (< 10 ng/ml; $p=0,283$), erreichten sie das Stadium der Fernmetastasierung später ($p=0,641$). Hierbei gilt es zu bedenken, dass die Krankheitsverläufe sehr unterschiedlich waren. Teils verweilten Patienten jahrelang im Stadium III oder IV, ehe es unvermittelt zu einem Progress der Erkrankung kam. Die Vergleichbarkeit der Krankheitsverläufe war daher aufgrund der hohen Standardabweichung erschwert. Die Größe des Studienkollektives erlaubte es nicht, eine weitere Unterteilung z.B. nach der Tumordicke oder der Lokalisation der Tumoren vorzunehmen. Um aussagekräftigere Daten zu erhalten, wäre eine Studie mit höheren Fallzahlen notwendig, die eine solche Unterteilung erlaubt.

Bislang wurde noch nicht untersucht, ob es im Verlauf der Melanomerkrankung zu reduzierten 25(OH)D-Serumkonzentrationen kommt und ob sich dies negativ auf den Krankheitsverlauf auswirkt. Um dies einschätzen zu können, haben wir die Gruppe der Melanom-Patienten nach ihren Tumorstadien unterteilt. Die Patienten im Stadium IV ($n=115$) wiesen signifikant niedrigere 25(OH)D-Serumwerte als die Stadium I-Patienten auf ($n=50$; $p=0,006$). Möglicherweise kommt es im Krankheitsverlauf zu

einem Absinken der 25(OH)D-Serumkonzentrationen. Welche Mechanismen hier zu Grunde liegen, ist noch nicht bekannt. Möglicherweise ist im Rahmen der Tumorprogression die hepatische 25(OH)D-Synthese beeinträchtigt, z.B. beim Vorliegen von Lebermetastasen.

Auch das Freizeitverhalten der Stadium-IV-Patienten darf nicht außer Acht gelassen werden. Je weiter die Erkrankung fortgeschritten ist, desto mehr verschlechtert sich der Allgemeinzustand der Patienten. Hinzu kommen Klinikaufenthalte und Behandlungszeiten (u.a. Chemotherapien), die zu einer weiteren Schwächung der Patienten führen. Es ist davon auszugehen, dass sich die Stadium IV-Patienten auch weniger im Freien aufhalten.

Die UV-Exposition hängt nicht nur vom individuellen Freizeitverhalten ab, sondern unterliegt auch den klimatischen Bedingungen. Vorausgegangene Studien untersuchten die Mortalität unterschiedlicher Malignome in Abhängigkeit von der Jahreszeit, die bei Feststellung des Tumorleidens herrschte.

Anhand der erhobenen Daten überprüften auch wir, ob die Jahreszeit bei Diagnosestellung einen prognostischen Einfluss auf den Krankheitsverlauf des malignen Melanoms hat. Hierzu wurden die Melanom-Patienten nach der Jahreszeit ihrer Erstdiagnose in 4 Gruppen eingeteilt: **Winter** (1. Dez. – 28. bzw. 29. Febr.); **Frühling** (1. März – 31. Mai); **Sommer** (1. Juni – 31. Aug.); **Herbst** (1. Sept. – 30. Nov.). Die Mediane dieser Gruppen wurden wiederum bzgl. des Zeitintervalls zwischen der Primärexzision und dem Auftreten von Lymphknoten- und Fernmetastasen verglichen. Es ließen sich zwar keine statistisch signifikanten Unterschiede objektivieren, dennoch fiel auf, dass die im Frühling und Herbst diagnostizierten Melanome im Vergleich zu denen im Sommer und Winter diagnostizierten einen ungünstigeren Krankheitsverlauf zeigten. Die Zeitintervalle bis zur ersten Lymphknotenmetastasierung betrugen bei den im Winter diagnostizierten Melanomen 16,40 Monate im Vergleich zu 1,20 Monaten bei den im Herbst diagnostizierten Melanomen ($p=0,163$). Diese beiden Werte zeigten die größte Differenz auf. Im Bezug auf die Fernmetastasierung waren die Zeitintervalle der im Sommer diagnostizierten Melanome mit 31,70 Monaten am längsten, während wiederum die Intervalle der im Herbst diagnostizierten Melanome vergleichsweise kurz waren (14,20 Monate). Der Korrelationstest ergab hier einen p-Wert von 0,057; somit bestand „Borderline-Signifikanz“.

In aktuellen Studien wurde der Zeitpunkt der Erstdiagnose mit dem Krankheitsverlauf und der Mortalität verschiedener Malignome korreliert (Robsahm et al., 2004; Porojnicu et al., 2007). In Norwegen, wo seit 1953 alle Krebsdiagnosen in einem Register verzeichnet werden, untersuchte man die Mortalität des Colon-, Prostata- und Mammakarzinoms auf diesen Aspekt hin: die Todesraten nach 18 Monaten, 36 Monaten und 45 Monaten waren um 20-30% niedriger, wenn die Diagnose im Herbst gestellt wurde, im Vergleich mit denen der im Winter diagnostizierten Krankheitsfälle (Porojnicu et al., 2007). Auch für Patienten, die an Lungenkrebs bzw. Hodgkin-Lymphomen erkrankt waren, ergaben sich prognostische Vorteile bei Diagnosestellung im Herbst (Robsahm et al., 2004; Porojnicu et al., 2007). Zum Teil werden diese protektiven Effekte mit einem erhöhten 25(OH)D-Serumspiegel zum Zeitpunkt der Diagnosestellung begründet (Robsahm et al., 2004). Für das maligne Melanom findet man in der Literatur im Bezug auf diese Fragestellung divergierende Ergebnisse: Boniol zeigte im Jahre 2006 an einem Patientenkollektiv in Australien, dass die im Sommer diagnostizierten Melanome signifikant bessere Überlebensraten hatten, als die im Winter diagnostizierten ($HR=0,72$; 95% CI=0,65-0,81; Boniol et al., 2006). Demgegenüber berichtete Morale Suárez–Varela in Spanien von einer signifikant höheren Sterblichkeit der im Juli und August diagnostizierten Melanome (Morale Suárez–Varela et al., 1990). Die Diskrepanz dieser Studienergebnisse lässt darauf schließen, dass sowohl der 25(OH)D-Serumspiegel als auch der Krankheitsverlauf des malignen Melanoms von vielen Faktoren beeinflusst wird. Regionale und klimatische Unterschiede führen z.B. zu unterschiedlich starken jahreszeitlichen Schwankungen der UV-Exposition. Hinzu kommen u.a. ethnische und konstitutionelle Unterschiede der Studienpopulationen. Es wäre daher wünschenswert, dass diese Fragestellung in größeren und prospektiven Studien wieder aufgegriffen wird. Wir verkennen auch nicht, dass bei unserer Untersuchung der Progress der Erkrankung und nicht die Mortalität verglichen wurde; zu beidem liegen für Deutschland bisher keine vergleichbaren Daten vor.

Doch nicht nur die Jahreszeit zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ist relevant, sondern auch die Jahreszeit bei Blutentnahme ist für die Interpretation und Vergleichbarkeit der Daten von Bedeutung. Sämtliche Blutentnahmen wurden daher in den Monaten Oktober bis April durchgeführt, um die saisonalen Schwankungen des 25(OH)D-Serumspiegels in unserem Kollektiv so gering wie möglich zu halten.

Damit waren die besonders lichtintensiven Monate Mai bis September ausgespart, in denen bekanntlich hohe 25(OH)D-Spiegel zu erwarten sind. Dennoch haben wir auch im beschriebenen Zeitfenster die Serumwerte nach Jahreszeiten und Monaten eingeteilt und verglichen. Die höchsten 25(OH)D-Serumwerte wurden mit 20,60 ng/ml im Oktober gemessen, während sie in den Wintermonaten (13,25 ng/ml) und den ersten Frühlingswochen (11,90 ng/ml) deutlich niedriger waren ($p=0,0001$). Es zeigt sich, dass in dem von uns gewählten Zeitfenster saisonale Schwankungen des 25(OH)D-Serumspiegels bestehen; es ist aber zu vermuten, dass diese innerhalb der Sommermonate noch wesentlich größer ausgefallen wären. Anlaß zu dieser Vermutung gibt eine aktuelle Studie von Hintzpeter et al., die in Deutschland bei 4,020 Probanden den Vitamin D-Status bestimmte. Auch hier wurden in den Monaten Mai bis September die höchsten 25(OH)D-Serumspiegel gemessen (Hintzpeter et al., 2007).

Ergänzend untersuchten wir auch, ob das Alter der Patienten die Höhe des 25(OH)D-Serumspiegels beeinflusst. Hier war bei den Melanom-Patienten mit zunehmendem Alter ein Trend zu geringeren 25(OH)D-Serumspiegeln erkennbar: im Vergleich der 14-34-Jährigen und der >65-Jährigen ergab sich beim Korrelationstest ein p-Wert von 0,053. Es bestand somit „Borderline-Signifikanz“. In der Literatur wird die Meinung vertreten, dass der 25(OH)D-Serumspiegel im Alter geringer wird, weil die Vitamin D-Adsorption im Darm abnimmt (Clemens et al., 1986) und weniger Vitamin D-Prekursoren in der Haut gespeichert werden können (MacLaughlin und Holick, 1985). Gegenläufige Ergebnisse stellten wir hingegen bei der Untersuchung der Kontrollpersonen fest: hier besaßen die älteren Probanden die höchsten 25(OH)D-Serumwerte. Diese Diskrepanz ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass zu der Kontrollgruppe unter den jüngeren Probanden viele „Indoor-Arbeiter“ zählen, die berufsbedingt weniger Sonnenexposition und geringere Vitamin D-Werte aufweisen. Im Gegensatz dazu finden sich unter den älteren Probanden viele agile Rentner, die nach eigenen Angaben viel Zeit im Freien verbringen.

Ferner wurden die Studienteilnehmer nach ihrem Geschlecht in zwei Gruppen eingeteilt. Auch hier waren keine statistisch signifikanten Unterschiede des 25(OH)D-Serumspiegels zu verzeichnen. Die weiblichen Individuen unter den Melanom-Patienten wiesen allerdings niedrigere 25(OH)D-Werte auf, als die Probandinnen der Kontrollgruppe ($p=0,064$). Allgemein wird in diesem Zusammenhang diskutiert, dass

Frauen weniger Pigment ausbilden, als Männer und dass sie v.a. während der Schwangerschaft und Laktation einen erhöhten Bedarf an Vitamin D-Hormon besitzen (Jablonski et al., 2000); dennoch sind zusammenfassend keine eindeutigen geschlechtsspezifischen Unterschiede in unserem Studienkollektiv erkennbar.

In der Literatur wurde vielfach eine inverse Beziehung zwischen dem Body mass index (BMI) und den 25(OH)D-Spiegeln berichtet (Need et al., 1993; Jacques et al., 1997; Wortschmann et al., 2000; Snijder et al., 2006). Als Ursache wird u.a. eine langsamere Mobilisierung aus dem Fettgewebe aufgrund des größeren Körperpools bei Übergewichtigen diskutiert (Need et al., 1993). Aber auch eine vermehrte Synthese von Calcitriol wird angenommen, wodurch über eine negative Feedback-Regulation die hepatische Calcidiolsynthese gehemmt wird (Bell et al., 1984). Eine aktuelle Studie untersuchte die 25(OH)D-Serumspiegel von 1.763 Männern und 2.267 Frauen in Deutschland im Alter zwischen 18 und 79 Jahren (Hintzpeter et al., 2007). Es wurde eine Gruppeneinteilung der Probanden nach dem BMI vorgenommen. Die niedrigsten 25(OH)D-Serumkonzentrationen wurden sowohl in der Gruppe der Untergewichtigen (BMI: $<20 \text{ kg/m}^2$) als auch bei den Übergewichtigen (BMI: $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) festgestellt. Hierbei ergaben sich übereinstimmend bei den weiblichen ($p=0,0034$) und männlichen Probanden ($p=0,001$) hoch signifikante Unterschiede (Hintzpeter et al., 2007). In Anlehnung an diese Arbeit prüften wir unser Studienkollektiv auf diesen Zusammenhang hin. Es ergaben sich hier ganz ähnliche Ergebnisse mit den niedrigsten 25(OH)D-Serumspiegeln in der Gruppe der Untergewichtigen (BMI: $<20 \text{ kg/m}^2$: 9,841 ng/ml). Auch die Übergewichtigen (BMI: $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) wiesen mit einem Median von 11,80 ng/ml niedrigere 25(OH)D-Serumkonzentrationen auf, als die Normalgewichtigen (BMI: 20-24 kg/m^2 : 12,70 ng/ml). Die Ergebnisse sind zwar statistisch nicht signifikant; es spiegelt sich allerdings trotz der geringen Fallzahl ein bemerkenswert ähnliches Bild wider.

Auswertung der Fragebögen zur Sonnenlichtexposition

In den oben beschriebenen Ergebnissen wurde festgestellt, dass Stadium IV-Melanom-Patienten deutlich erniedrigte 25(OH)D-Serumspiegel aufweisen und dass es möglicherweise im Verlauf der Erkrankung zu einem Absinken des Spiegels kommt. In dem Zusammenhang wollten wir die Bedeutung der individuellen Sonnenlichtexposition genauer untersuchen, um weitere Einflussfaktoren auf den Vitamin D-Spiegel aber auch das individuelle Risikoprofil für das maligne Melanom besser beurteilen zu können. Dazu führte ich mit einem Teil des Kollektivs Telefoninterviews durch. Insgesamt befragte ich 100 Studienteilnehmer (Melanom-Patienten n= 58; Kontrollgruppe n= 42); zu ihrem Verhalten der Sonne gegenüber (vgl. hierzu S. 62ff.). Aus der Vielzahl der gestellten Fragen beschränke ich mich in der Diskussion auf vier Faktoren: starke Sonnenexposition (a), Hauttyp (b), den Gebrauch von Sonnenschutzprodukten (c) und die Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände (d).

a) Häufigkeit der Sonnenexposition

Zunächst sollten die Probanden Angaben dazu machen, an wievielen Tagen sie innerhalb der letzten zwei Jahre der Sonne besonders stark ausgesetzt waren. Es zeigte sich ein linearer Zusammenhang: Je mehr Sonnentage von den Patienten angegeben wurden, desto höhere Werte des 25(OH) D-Serumspiegels wurden bestimmt (vgl. S. 98ff). Während die Gruppe der Probanden, die weniger als 50 Tage der Sonne stark exponiert waren, einen Median der 25(OH) D-Serumkonzentration von 8,16 ng/ml besaß, betrug der entsprechende Wert bei denen, die mehr als 150 Tage angaben 25,90 ng/ml ($p=0,001$). Es läßt sich somit eine deutliche Korrelation zwischen der Sonnenlichtexposition und dem 25(OH) D-Serumspiegel nachweisen, die statistisch signifikant ist. Diese Ergebnisse entsprechen unseren Erwartungen, da bekannt ist, dass über 90% des Vitamin D-Bedarfes durch den Einfluss von UVB-Licht in der Haut gebildet werden und somit der 25(OH) D-Serumspiegel maßgeblich von der Sonnenexposition beeinflusst wird (Holick, 2004b).

Im Gegensatz zum hellen Hautkrebs, wo UV-Exposition als wichtigster umweltbedingter Risikofaktor angesehen wird, scheint die pathogenetische Rolle von UV-Strahlung bei der Entstehung von malignen Melanomen vielschichtiger zu sein: Einerseits beobachtet man in Australien und den USA die höchsten Inzidenzraten in der Nähe des Äquators, in Gegenden niedriger Breitengrade. Dort ist die UV-

Exposition am höchsten und auch das Risiko für Sonnenbrände besonders hoch. Andererseits stellen sich die Inzidenzraten für Europa gegensätzlich dar. Hier ist ein Nord-Süd-Gefälle zu erkennen, mit hohen Inzidenzraten in Skandinavien und niedrigen in den Mittelmeerländern. Man erklärt sich dies durch Unterschiede im Pigmentierungstyp der Bevölkerung, da in den Mittelmeerländern ein dunkler Hauttyp (Typ III und IV nach Fitzpatrick) vorherrscht, während in Skandinavien häufiger helle Hauttypen angetroffen werden (Hauttyp I und II nach Fitzpatrick).

Elwood hat in einem Review 29 Studien verglichen, die sich mit den Zusammenhängen zwischen Sonnenexposition und dem malignem Melanom beschäftigten (Elwood und Jopson, 1997). Insgesamt zeigte sich eine deutliche und statistisch signifikante Korrelation zwischen intermittierender Sonnenexposition und der Inzidenz von malignen Melanomen ($OR=1,71$). Auch die Anzahl der Sonnenbrände erhöhte statistisch signifikant das Erkrankungsrisiko ($OR=1,91$). Im Gegensatz dazu schützte eine starke berufliche Sonnenexposition signifikant vor Melanomen ($OR=0,86$; Elwood und Jopson, 1997). Diese Beobachtung deckt sich mit anderen Studienergebnissen zur beruflichen Sonnenexposition: Gass und Bopp haben in der Schweiz die Mortalität des malignen Melanoms bei verschiedenen Berufsgruppen verglichen. Menschen, die hauptsächlich Bürotätigkeiten ausübten (einschließlich kaufmännische und technische Berufe sowie Akademiker) wiesen eine etwas höhere Mortalität auf, verglichen mit solchen Berufsgruppen, die häufig und regelmäßig der Sonne ausgesetzt waren (Gass und Bopp, 2005).

Nach gegenwärtigem Wissensstand geht man davon aus, dass kurzzeitige intensive Sonnenexposition, v.a. Sonnenbrände in der Kindheit, das Melanomrisiko erhöhen (Gandini et al., 2005; Osterlind et al., 1988), während chronische, weniger intensive Sonnenexposition keinen Risikofaktor darstellt, sondern eher eine protektive Wirkung hat (Elwood und Jopson, 1997; Elwood et al., 1985; Kennedy et al., 2003; Gass und Bopp, 2005). Auch die Tatsache, dass <10 % der kutanen Melanome im Gesicht lokalisiert sind, wo die kumulative Sonnenexposition am höchsten ist, unterstützt diese These. Dabei handelt es sich zudem meist um Lentigo-maligna-Melanome, die bei älteren Menschen auf dem Boden von Präkanzerosen langsam entstehen und denen somit möglicherweise ganz andere Pathomechanismen zugrunde liegen. Einige vermuten sogar, dass verschiedene Kausalwege zu Melanomen an Kopf und Nacken (getriggert durch kumulative Sonnenexposition), bzw. am Körperstamm

(getriggert durch intermittierende Sonnenexposition) führen (Whiteman DC et al., 2006). Nicht nur die Qualität und Quantität der UV-Strahlung beeinflussen die Melanominzidenz, sondern es scheint auch eine Rolle zu spielen, welche Körperregionen exponiert sind und ob diese regelmäßig oder selten der Sonne ausgesetzt werden. In den letzten Jahren wurden die höchsten Steigerungen der Melanom-Inzidenz in den Körperregionen mit viel intermittierender Sonnenexposition beobachtet (Körperstamm des Mannes und untere Extremitäten der Frau). Man vermutet daher, dass abrupte Veränderungen der Exposition mit einem besonders großen Risiko einhergehen.

b) Hauttyp

Man weiß, dass sowohl der sog. helle Hautkrebs als auch maligne Melanome in der hellhäutigen Bevölkerung (Hauttyp I und II) häufiger vorkommen, als bei stärker pigmentierten Individuen (Hauttyp III und IV) (Krickler et al., 1991). Andererseits schützt das in der Epidermis eingelagerte Melanin nicht nur vor dem schädigenden Einfluß von UV-Strahlung, sondern beeinträchtigt dort auch die Synthese von Vitamin D (Holick, 1994; Clemens et al., 1982). Dunkelhäutige sind somit eher gefährdet, eine Vitamin D-Defizienz zu erwerben. Vermutlich exponieren sie sich aber aufgrund ihrer „geringen Sonnenempfindlichkeit“ länger, so dass sich diese Effekte egalisieren. Wir konnten demnach keinen signifikanten Unterschied der 25(OH)D-Serumspiegel in den Gruppen verschiedener Hauttypen feststellen

c) Verwendung von Sonnenschutzprodukten

Auch der Gebrauch von Sonnenschutzprodukten übt einen Einfluß auf die kutane Vitamin D-Synthese aus; v.a wenn diese hohe Sonnenschutzfaktoren besitzen, kommt es zu einer wirksamen und anhaltenden Inhibierung der Vitamin D-Synthese in der Haut (Matsuoka et al., 1987; Holick, 2004b). Dies ist insbesondere für Menschen, die sich aus medizinischen Gründen konsequent vor der Sonne schützen müssen (z.B. Patienten mit Lupus erythematoses oder nach Nierentransplantation) relevant. Sowohl bei Nierentransplantierten mit adäquater Nierenfunktion (Querings und Reichrath, 2006) als auch bei Patienten mit seltenen Genodermatosen (Xeroderma pigmentosum bzw. Basalzellnävussyndrom; Querings und Reichrath, 2006) wurden in aktuellen Vergleichsstudien am Ende der Winterzeit signifikant erniedrigte 25(OH)D-Serumspiegel nachgewiesen. Es wird sogar die Hypothese vertreten, dass der Gebrauch von Sonnencreme das Melanomrisiko erhöht

(Westerdahl et al., 1995). In unserem Studienkollektiv wurden keine signifikanten Unterschiede des 25(OH)D-Serumspiegels zwischen den Probanden, die regelmäßig bzw. nie Sonnenschutzprodukte verwenden (regelmäßige Anwendung von Sonnenschutzprodukten: 15,00 ng/ml; nie Anwendung von Sonnenschutzprodukten: 13,20 ng/ml; $p=0,331$) bestimmt. Bei der Deutung dieser Ergebnisse muß zum einen bedacht werden, dass die Wahrnehmung des regelmäßigen Gebrauchs von Sonnenschutzprodukten bei den Probanden sehr unterschiedlich ist. Es kommt hinzu, dass es gegensätzliche Gründe gibt, Sonnenschutzprodukte nicht zu verwenden: viele Personen mit hellem Hauttyp meiden die Sonne generell und benötigen deshalb keinen Sonnenschutz. Demgegenüber verzichten Personen mit dunklem Hauttyp häufig darauf, weil sie der Sonne gegenüber unempfindlich sind. Studien haben darüber hinaus gezeigt, dass die meisten Anwender von Sonnenschutzprodukten unzureichende Mengen der Sonnencreme auftragen. Die für die Herstellerangaben verbindliche Menge von 2 mg/cm^2 wird demnach meist nur zur Hälfte aufgetragen (Bech-Thomsen und Wulf, 1992); es resultiert ein unzureichender Schutz vor Sonnenbränden und eine weniger starke Inhibierung der kutanen Vitamin D-Synthese.

d) Sonnenbrände

Kontrovers wird die pathogenetische Rolle von Sonnenbränden und UV-Exposition für das maligne Melanom diskutiert. In unserem Studienkollektiv haben wir keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel festgestellt (Kein Sonnenbrand in der Eigenanamnese: 13,20 ng/ml; >10 Sonnenbrände in der Eigenanamnese: 15,50 ng/ml, $p=0,688$).

Berwick untersuchte in einer großen populationsbasierten Studie die Korrelation zwischen Sonnenexposition und Mortalität des malignen Melanoms. 528 Melanom-Patienten wurden innerhalb von 3 Monaten nach Diagnosestellung befragt. Zusätzlich wurde ein Hautscreening durchgeführt und die Mortalität über einen Zeitraum von 5 Jahren dokumentiert. Es zeigte sich eine statistisch signifikante, inverse Korrelation zwischen Markern der Sonnenexposition (intermittierende Sonnenexposition, Sonnenbrände, solare Elastose) und der Melanom-Mortalität (Berwick et al., 2005). Es wird vermutet, dass die Menschen mit regelmäßiger Sonnenexposition aufgrund höherer Vitamin D-Serumspiegel günstigere Prognosen aufweisen. Aber es ist auch denkbar, dass sie durch erhöhte Hautpigmentierung und eine bessere DNA-Reparatur-Kapazität weniger gefährliche Melanome ausbilden

(Gilchrest et al., 1999), oder, dass das Auftreten der Tumore verzögert wird. In diesen Kontext passt auch die Beobachtung, dass von einigen Populationen trotz überdurchschnittlich hohen Inzidenzraten günstige Überlebenszeiten berichtet werden (Lemish et al., 1983). Auch frühere Studien haben schon die protektiven Effekte von Sonnenexposition für das Überleben von Melanom-Patienten postuliert und ähnliche Schlussfolgerungen gezogen (Henan, 1991; Zanetti, in preparation). Trotzdem widerspricht zumindest die Korrelation zwischen Sonnenbränden und günstigeren Überlebenszeiten den Ergebnissen anderer Studien (Holick und Garabedian, 2006; Thomas et al., 1988; Gandini et al., 2005; Elwood und Jopson, 1997; Whiteman et al., 2001).

Abschliessend lässt sich sagen, dass die Selbsteinschätzung der individuellen Sonnenlichtexposition signifikant mit den von uns gemessenen 25(OH)D-Serumwerten korrelierte. Demgegenüber liess sich bei den anderen drei untersuchten Faktoren - hinsichtlich des Hauttyps der Probanden, dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände - keine statistische Signifikanz feststellen.

Schlussbemerkungen und Ausblick

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchung waren vielfältige Studien zu dem Vitamin D-Status bezogen auf Krebserkrankungen. Sie haben unser Wissen dahingehend erweitert, dass 1,25(OH)₂D nicht nur ein calziotropes Hormon ist, sondern auch viele wichtige Eigenschaften und Funktionen besitzt, die potenziell präventiv auf die Entstehung und verzögernd auf den Progress von Krebserkrankungen wirken. Das Vitamin D Hormon vermittelt über eine VDR-Aktivierung dosisabhängig eine Proliferationshemmung, wodurch hypertrophes Zellwachstum reguliert werden kann (Holick, 2003a). Zugleich nehmen Invasivität, Angiogenese und Metastasierungspotential ab, während Zelldifferenzierung und Apoptose induziert werden (Giovannucci, 2005).

Daher lag anfänglich die Vermutung nahe, dass der 1,25(OH)₂D-Wert im Serum ein geeignetes Maß für diese Eigenschaften sei. So hat beispielsweise Cornwell 1992 erstmals in einer prospektiven Fall-Kontrollstudie die prädiagnostischen 1,25(OH)₂D-Serumspiegel von Melanom-Patienten (n=23) untersucht. Die mittleren Serumspiegel lagen nur um 5% unter denen der Kontrollgruppe (n=46); Cornwell selbst ging eher

von einem zufälligen Unterschied aus (Cornwell et al., 1992). Heute wird die Meinung vertreten, dass der 1,25(OH)₂D-Serumspiegel aufgrund seiner strengen Regulation weniger Aussagekraft besitzt. Stattdessen wird der 25(OH)D-Serumspiegel derzeit als zuverlässiger Marker für das im Organismus gespeicherte Vitamin D und für die vermuteten krebspräventiven Eigenschaften angesehen. Dafür spricht, dass 25(OH)D eine deutlich längere Halbwertszeit besitzt (ca. 2-3 Wochen), sich einfacher bestimmen lässt und auch sehr gut mit dem klinischen Bild von Vitamin D-Mangelkrankungen korreliert (s. Tab. 2/S. 29; Adams et al., 1982; Reichel et al., 1989a). Zu diesen Erkenntnissen hat v.a. der Nachweis beigetragen, dass viele Gewebe lokal 1,25(OH)₂D bilden können. Dieses extrarenal produzierte 1,25(OH)₂D wirkt dann auf oben beschriebene Art und Weise v.a. im Mikroenvironment. Als Substrat für diese extrarenale Synthese dient das im Blut zirkulierende 25(OH)D. Bei erniedrigten 25(OH)D-Serumspiegeln resultiert somit möglicherweise eine Schwächung dieser regulierenden, auf das lokale Zellwachstum einwirkenden Funktionen. So hat kürzlich Gorham in einem systematischen Review aufgezeigt, dass Patienten mit hohen 25(OH)D-Serumwerten (≥ 33 ng/ml) eine um 50% geringere Inzidenz ($p=0,01$) aufwiesen, an einem colorektalem Karzinom zu erkranken, als solche mit niedrigen Serumspiegeln (≤ 12 ng/ml; Gorham, 2007).

Dies lässt auf eine große Relevanz des 25(OH)D-Serumspiegels für die Inzidenz des colorektalen Karzinoms schliessen. Eine entsprechende Aussage lässt sich anhand der hier vorliegenden Studie für das maligne Melanom nicht treffen. Dies hat mehrere Gründe: zum einen handelt es sich um eine retrospektive Verlaufsbeobachtung, zum anderen ist die Bezugsgrösse der Sonnenexposition für das maligne Melanom ein zweiseitiges Schwert. Zweiseitig deshalb, weil UV-Exposition einen wichtigen umweltbedingten Risikofaktor darstellt und weil die Mehrheit der Melanome zumindest teilweise auf exzessive Sonnenexposition zurückgeführt wird (Leiter und Garbe, in press). Demgegenüber geht man davon aus, dass ein hoher 25(OH)D-Serumspiegel, wie für andere Malignome beschrieben, auch beim malignen Melanom über die o.g. Mechanismen protektiv wirken könnte. Die vorliegende Studie ist dieser Annahme nachgegangen und hatte insbesondere zum Ziel, eine potentielle Gefährdung von Stadium-IV-Patienten für eine Vitamin D-Defizienz aufzuzeigen und zu ergründen, welche zusätzlichen Faktoren hierauf Einfluss nehmen.

Aufgrund der Ergebnisse der Studie kommen wir zu dem Schluß, dass für Melanom-Patienten im Stadium IV das Risiko einer Vitamin D-Defizienz deutlich erhöht ist. Im Gegensatz dazu wiesen die Stadium-I-Patienten normwertige 25(OH)D-Serumspiegel auf. Eine zentrale Frage ist, ob die niedrigen 25(OH)D-Serumspiegel der Stadium-IV-Patienten auf die Krankheit oder auf ein verändertes Verhalten im Blick auf die Sonnenlichtexposition zurückzuführen sind.

Anhand der Fragebögen zur Sonnenlichtexposition konnte aufgezeigt werden, dass die von den Probanden angegebenen Sonnenexpositionszeiten mit der Höhe der 25(OH)D-Serumwerte positiv und signifikant korrelierten. Bezüglich anderer Faktoren, wie Hauttyp, Verwendung von Sonnenschutzprodukten und die Anzahl der Sonnenbrände, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Eine Korrelation zwischen der Tumordicke und dem 25(OH)D-Serumspiegel war nur schwach ausgebildet. Weder der 25(OH)D-Serumspiegel noch die Tumordicke erwiesen sich in unserem Kollektiv als zuverlässiger Voraussagewert im Blick auf den Krankheitsverlauf.

Es sind somit größere und prospektive Studien notwendig, um die Relevanz der möglichen protektiven Effekte durch einen hohen Vitamin D-Status am Beispiel des malignen Melanoms detaillierter zu untersuchen. Dann wäre es ggf. möglich, die vielen weiteren Einflußgrößen (u.a. Hauttyp, BMI, Lokalisation und histologischer Typ der Melanome) innerhalb der untersuchten Gruppen zu berücksichtigen. Neben der Fragestellung, ob und unter welchen Bedingungen diese protektiven Effekte die Erkrankung positiv beeinflussen, interessiert auch die Höhe des anzustrebenden 25(OH)D-Serumspiegels. Epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass chronische Sonnenexposition, z.B. durch den Beruf bedingt, zu geringeren Inzidenzraten des malignen Melanoms führt (Gass und Bopp, 2005). Es kann daher vermutet werden, dass sich auch für das maligne Melanom aufzeigen läßt, dass in der Gruppe der Individuen mit hoch-normalen Werten die Inzidenzraten deutlich niedriger liegen, als bei den Vitamin D-defizienten Individuen. Hier stellt sich allerdings die Frage, wie hoch der Normwert für 25(OH)D anzusetzen ist. In den letzten Jahren wurden diesbezüglich einige Vorschläge formuliert, die nicht nur die krebspräventiven, sondern v.a. auch die positiven Wirkungen auf den Knochenstoffwechsel einschlossen. Der Referenzbereich unseres Labors wird mit 20-50 ng/ml angegeben und orientiert sich an den ganzjährig gemessenen Werten

der Normalverteilung. Von vielen Wissenschaftlern werden Werten unter 20 ng/ml als Vitamin D-Defizienz angegeben (Holick, 2006; Bischoff-Ferrari et al., 2007; Malabana et al., 1998; Thomas et al., 1998). Aber auch die inverse Assoziation mit dem Parathormonspiegel (niedrige 25(OH)D-Serumwerte werden durch erhöhte PTH-Spiegel zur Bereitstellung von Kalzium ausgeglichen) bietet einen messbaren Grenzpunkt, denn oberhalb eines 25(OH)D-Spiegels von 30-40 ng/ml fallen die PTH-Spiegel nicht weiter (Thomas et al., 1998; Chapuy et al., 1997; Holick et al., 2005). Wenn man bei Frauen den 25(OH)D-Serumspiegel von 20 ng/ml auf 32 ng/ml anhebt, wird der intestinale Kalziumtransport deutlich gesteigert. Auch diese Erkenntnis spricht dafür, dass höhere 25(OH)D-Serumwerte wünschenswert wären (Heaney et al., 2003). Daher werden in aktuellen Publikationen immer häufiger 25(OH)D-Serumwerte von 30 ng/ml als unterer Richtwert gefordert (Dawson-Hughes et al., 2005). Aber selbst nach dieser Definition schätzt man die Prävalenz der Vitamin D-Defizienz weltweit auf ca. 1 Milliarde Menschen (Holick, 2007), wobei auch Kinder und junge Erwachsene häufig betroffen sind. Wenn man sich die hohe Prävalenz der Vitamin D-Defizienz und die hohen angestrebten Serumspiegel für 25(OH)D vor Augen hält, gibt es drei Möglichkeiten, dem entgegen zu wirken:

1. Es kann mehr Sonnenexposition propagiert werden: dies ist insbesondere bei Risikogruppen angezeigt, die sich ggf. zu konsequent vor der Sonne geschützt haben (z.B. Patienten nach Nierentransplantation, Melanom-Patienten im Stadium IV). Voraussetzung ist allerdings eine intensive Aufklärung über die Risiken übermäßiger Sonnenexposition. Neben dem Erlernen von Sonnenschutzstrategien sollte auch das Wissen um die protektiven Effekte einer regelmäßigen, kurzzeitigen Sonnenexposition vermittelt werden: da die Haut an einem sonnigen Tag bei Ganzkörper-UV-Exposition >10,000 IU Vitamin-D produziert, reicht im Frühjahr, Sommer und Herbst schon eine Exposition von <18% der Körperoberfläche (z.B. Hände, Arme, Gesicht) 2–3x pro Woche über eine Zeit von 1/3–1/2 MED (Minimale Erythem-Dosis) aus, um ausreichend Vitamin D zu bilden.

2. Über eine orale Substitution von Vitamin D kann eine Defizienz sicher und effizient behandelt werden. Es gibt verschiedene Behandlungsregime, die u.a. auch für solche Risikogruppen geeignet sind, die sich krankheitsbedingt nicht ausreichend im Freien aufhalten können (z.B. bettlägerige Altenheim-Bewohner, Melanom-Patienten mit deutlich reduziertem Allgemeinzustand). Generell muß zwischen der Gabe von

Vitamin D₂ und Vitamin D₃ unterschieden werden, da Vitamin D₂ einen deutlich geringeren Einfluß auf den 25(OH)D-Serumspiegel hat (nur ca. 30% der Effektivität von Vitamin D₃; Armas et al., 2004; Trang et al., 1989). Schon die 1x wöchentliche Gabe von 50,000 IU Vitamin D₂ über einen Zeitraum von 8 Wochen ist sicher und effizient (Vieth, 1999). Wenn eine dauerhafte Gabe indiziert ist, können auch 50,000 IU Vitamin D₂ über längere Zeit 1x pro Monat verabreicht werden. Alternativ kann auch mit 1,000 IU Vitamin D₃ pro Tag oder 3,000 IU Vitamin D₂ täglich therapiert werden. Schließlich besteht noch die Möglichkeit, 100,000 IU Vitamin D₃ 1x pro 3 Monate zu verabreichen (Trivedi et al., 2003).

3. Vitamin D kann auch als Nahrungszusatz in Lebensmitteln (z.B. Milch, Margarine, Orangensaft, Yoghurt) aufgenommen werden. Nach gastrointestinaler Absorption gelangt es in den Kreislauf und wird gleichermaßen wie das in der Haut synthetisierte Vitamin D durch zwei Hydroxylierungsschritte in der Leber und Niere zur aktiven Form metabolisiert. Dieser Nahrungsergänzung kommt eine große Bedeutung zu, weil natürliche Lebensmittel mit einem hohen Vitamin D-Gehalt rar sind (u.a. Lebertran, Fischöl). Leider herrscht immer noch die Angst vor einer Vitamin D-Intoxikation vor. Dabei wird der tägliche Bedarf nach aktueller Lehrmeinung auf 4,000-10,000 IU Vitamin D geschätzt, wobei Nebenwirkungen bis zu einer täglichen Dosis von 40,000 IU nicht zu erwarten sind (Vieth, 1999). Dieser große Sicherheitsbereich verdeutlicht, dass nur Patienten mit einem besonderen Risikoprofil (u.a. chronische Nierenerkrankungen) gefährdet sind, eine Vitamin D-Intoxikation zu erleiden.

Trotz der großen Prävalenz der Vitamin D-Defizienz in unserer Bevölkerung darf die andere Seite des doppelschneidigen Schwertes nicht vernachlässigt werden. In den letzten Jahrzehnten hat die UV-Exposition in den industrialisierten Ländern stetig zugenommen. Neben der Abnahme der Ozonschicht haben u.a. auch sozio-ökonomische- und kulturelle Veränderungen sowie Lifestyle-Trends und eine Zunahme an Freizeit sowie Urlauben in sonnigen Gegenden dazu beigetragen. Gesellschaftliche Faktoren waren v.a. ein verändertes Schönheitsideal, indem gebräunte Haut als Symbol für Gesundheit und Sexappeal angesehen wurde und die Wellnessbewegung. Immer mehr Menschen besuchen daher regelmäßig Sonnenstudios und setzen sich somit einem erhöhten Hautkrebsrisiko aus (Holick und Garabedian, 2006; Thomas et al., 1998). Da das UV-Spektrum dort jedoch

überwiegend aus UVA-Strahlung besteht, wird die kutane Vitamin D-Synthese nicht immer ausreichend aktiviert (Gorham et al., 2005). Wichtig ist, dass weiterhin vor den Gefahren exzessiver Sonnenexposition, v.a. Sonnenbrände in der Kindheit, gewarnt wird. Gleichzeitig sollte aber auch über die Gefahren einer Vitamin D-Defizienz aufgeklärt werden. Angesichts der weiten Verbreitung sollten insbesondere Risikogruppen regelmäßig untersucht und ggf. auch behandelt werden. In Bezug auf das maligne Melanom muß unser Verständnis über die Biologie der Tumorprogression verbessert werden, auch vor dem Hintergrund einer möglichen Relevanz des Vitamin D-Status. Welche Rolle spielen hierbei die antiproliferativen und proapoptotischen Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}$? Kommt es möglicherweise zu einer Abschwächung dieser Effekte durch die UV-bedingte Schwächung der zellulären Immunität? Es gibt noch viele weitere spannende Fragen in folgenden Projekten zu erschließen.

6. Literaturverzeichnis

Adams JS, Clemens TL, Parrish JA, Holick MF (1982): Vitamin-D synthesis and metabolism after ultraviolet irradiation of normal and vitamin d-deficient subjects. *N. Engl. J. Med.* 306: 722-5

Adorini L, Penna G, Giarratana N, Uskokovic M (2003): Tolerogenic dendritic cells induced by Vitamin-D receptor ligands enhance regulators T cells inhibiting allograft rejection and autoimmune diseases. *J. Cell. Biochem.* 88: 227-233

Agarwal KS, Mughal MZ, Upadhyay P, Berry JL, Mawer EB, Puliyl JM (2002): The impact of atmospheric pollution on vitamin D status of infants and toddlers in Delhi, India. *Archives of Disease in Childhood* 87: 111-113

Ahmad M, Rees RC, Ali SA (2004): Escape from immunotherapy: possible mechanisms that influence tumor regression/progression. *Cancer Immunol. Immunother.* 53: 844-854

Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P (2000): Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer causes Control* 11: 847-52

Albert LS, Rhodes AR, Sober AJ (1990): Dysplastic melanocytic nevi and cutaneous melanoma: markers of increased melanoma risk for affected persons and blood relatives. *J. Am. Acad. Dermatol.* 22: 69-75

Andersson S, David DL, Dahlback H, Jornvall H, Russel DW (1989): Cloning, structure and expression of the mitochondrial cytochrome P450 sterol 26-hydroxylase, a bile acid biosynthetic enzyme. *J. Biol. Chem.* 246: 8222-8229

Apperly FL (1941): The relation of solar radiation to cancer mortality in North America. *Cancer research* 1: 191-195

Armas LAG, Hollis BW, Heaney RP (2004): Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89: 538-91

Armstrong BK, Kricker A (1995): Skin cancer. *Dermatol. Clin.* 13: 583-594.

Balch CM, Urist MM, Karakousis CP, Smith TJ, Temple WJ, Drzewiecki K, Jewell WR, Bartolucci AA, Mihm NC Jr., Barnhill R (1993): Efficacy of 2-cm surgical margins for intermediate-thickness melanomas (1 to 4). Results of a multi-institutional randomized surgical trial. *Ann. Surg.* 218: 262-267

Balch CM, Soongs SJ, Gershenwald JE, Thompson JF, Reintges DS, Cascinelli N, Urist M, McMasters KM, Ross MI, Kirkwood JM, Atkins MB, Thompson JA, Coit DG, Byrd D, Desmond R, Zhang Y, Liu PY, Lyman GH, Morabito A (2001): Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J. Clin. Oncol.* 19(16): 3622-34

Barnhill RL, Mihm Jr MC, Fitzpatrick TB, Sober AJ (1993): Neoplasms: Malignant melanoma. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF (eds.): *Dermatology in General Medicine*. McGraw-Hill, New York: 1078-1115

Barth A, Wanek LA, Morton DL (1995): Prognostic factors in 1,521 melanoma patients with distant metastases. *J. Am. Coll. Surg.* 181: 193-201

Bataille V, Boniol M, DeVries E, Severi G, Brandberg Y, Sasieni P, Cuzick J, Eggermont A, Ringberg U, Grivegne AR, Coebergh JW, Chignol MC, Dore JF, Autier P (2005): A multicentre epidemiological study in sunbed use and cutaneous melanoma in Europe. *Eur. J. Cancer* 41(14): 2141-9

Battistutta D, Palmer J, Walters M, Walker G, Nancarrow D, Hayward N (1994): Incidence of familial melanoma and MLM₂ gene. *Lancet* 344: 1607-1608

Baxter LA, DeLuca HF (1997): Stimulation of 25-hydroxyvitamin-D₃-1-hydroxylase by phosphate depletion. *J. Biol. Chem.* 251: 3158-3161

Bayer W (1991): Vitamin D. In: Bayer W, Schmidt K: *Vitamine in Prävention und Therapie*. Hippokrates-Verlag Stuttgart: 31-64

Bech-Thomsen N, Wulf HC (1992): Sunbather's application of sunscreen is probably inadequate to obtain the sun protection factor assigned to the preparation *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed* 9: 242-4

Bektas M, Orfanos CE, Geilen CC (2000): Different Vitamin-D analogues induce sphingomyelin hydrolysis and apoptosis in the human keratinocyte cell line HaCaT. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-Grand)* 46: 111-19

Bell HH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S (1984): Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J. Clin. Invest.* 76: 270-3

Berwick M, Armstrong BK, Ben-Porat L, Fine J, Kricker A, Eberle C, Barnhill R (2005): Sun exposure and mortality from melanoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(3): 195-199

Bielawska A, Linardic CM, Hannun YA (1992): Modulation of cell growth and differentiation by ceramide. *FSBS Lett.* 307: 211-214

Bikle DD, Nemani MK, Gee E, Elias P (1986): 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ production by human keratinocytes. *J. Clin. Invest.* 78: 557-566

Bikle DD, Munson S, Christakos SC, Kumar R, Buckendahl P (1989): Calmodulin binding to the intestinal brush-border membrane: comparison to other calcium binding proteins. *Biochem. Biophys. Acta.* 1010: 122-127

Bikle DD, Pillai S (1993): Vitamin-D, calcium and epidermal differentiation. *Endocrine Rev.* 14: 3-19

Bikle DD, Halloran BP, Riviere JE (1994): Production of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃ by perfused pig skin. *J. Clin. Invest.* 102: 796-8

Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willet WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B (2007): Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 84: 18-28

Boniol M, Armstrong BK, Dore JF (2006): Variations in incidence and fatality of melanoma by season of diagnosis in new South Wales, Australia. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15(3): 524-6

Bonjour JP, Preston C, Fleisch H (1977): Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on renal handling of P_i in thyroparathyroidectomized rats. *J. Clin. Invest.* 60: 1419-1428

Boudreau A, Atamani F, Grosse B, Lieberherr M (1990): Rapid effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and extracellular Ca²⁺ on phospholipids metabolism in dispersed porcine parathyroid cells. *Endocrinology* 127: 2738-2743

Bouhtiy I, Lajeunesse D, Christakos S, Brunette MG (1994): Two Vitamin-D-dependend calcium binding proteins increase calcium reabsorption by different mechanisms. II: Effect of CaBP28k. *Kidney Int.* 45: 461-468

Bouillon RA, Auwerx JH, Lissens WD, Pelemans WK (1987): Vitamin D status in the elderly: seasonal substrate deficiency causes 1,25-dihydroxycholecaliferol deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 755-63

Boyan BD, Schwartz Z, Swain LD (1992): In vitro studies on the regulation of endochondral ossification by Vitamin-D. *Crit. Rev. Oral. Med.* 3: 15-30

Boyan BD, Bonewald LF, Sylvia VL, Nemere I, Larsson D, Norman AW, Rosser J, Dean DD, Schwartz Z (2002): Evidence for distinct membrane receptors for 1 α ,25-(OH)₂D₃ and 24R,25-(OH)₂D₃ in osteoblasts. *Steroids* 67: 235-246

Braun A, Bichlmaier R, Cleve H (1992): Molecular analysis of the gene for the human Vitamin-D binding protein (Gc): allelic differences of the common genetic Gc types. *Hum. Genet.* 89: 401-406

Bremner I (1991): Nutritional and physiological significance of metallothionein. In: Riordian JF, Vallee BL (eds.). *Methods in Enzymology; Metallochemistry, Part B, Metallothionein and Related Molecules*, vol. 205, San Diego; Academic Press: 25-35

Brumbaugh JK, Haussler MR (1975): Nuclear and cytoplasmic binding components for vitamin D metabolites. *Life Sci.* 16: 353-362

Bulliard JL, Cox B, Semenciw R (1999): Trends by anatomic site in the incidence of cutaneous malignant melanoma in Canada; 1969-93. *Cancer Causes Control* 10(5): 407-416

Bulliard JL (2000): Site-specific Risk of Cutaneous Malignant Melanoma and pattern of Sun Exposure in New Zealand. *Int. J. Cancer* 85: 627-632

Buzaid AC (2004): Management of metastatic cutaneous melanoma.
Oncology (Williston.Park) 18: 1443-1450

Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF (1996): 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ reversibly blocks the progression of elapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis.
Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 7861-4

Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF (1998): 1,25-Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis.
J. Nutr. 128: 68-72

Chandra S, Fullmer CS, Smith CA, Wassermann RH, Morrison GH (1990): Ion microscopic imaging of calcium transport in the intestinal tissue of Vitamin-D-deficient and Vitamin-D replete chicks: a ⁴⁴Ca stable isotope study.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990; 87: 5715-5719

Chapuy MC, Preziosi P, Maarnier M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, Meunier PJ (1997): Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population.
Osteoporosis Int. 7: 439-43

Chen TC, Wang L, Whitlatch LW, Flanagan JN, Holick MF (2003): Prostatic 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase and its implications in prostate cancer.
J. Cel. Biochem. 88(2): 315-322

Clemens TL, Henderson SL, Adams JS, Holick MF (1982): Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesize Vitamin-D₃. Lancet 1: 74-6

Clemens TL, Zhou XY, Myles M, Endres D, Lindsay R (1986): Serum vitamin D₂ and vitamin D₃ metabolite concentrations and absorption of Vitamin D₂ in elderly subjects.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 63: 656-60

Compston JE, Vedi S, Ledger JE, Webb A, Gazet JC, Pilkington TRE (1981): Vitamin D status and bone histomorphometry in gross obesity.
Am. J. Clin. Nutr. 34: 2359-63

Cooke NE, Haddad JG (1989): Vitamin-D binding protein (Gc-globulin).
Endocr. Rev. 10: 294-307

Coory M, Baade P, Aitken J, Smithers M, McLeod GR, Ring I (2006): Trends for in situ and Invasive Melanoma in Queensland, Australia, 1982-2002.
Cancer Causes Control 17: 21-27

Cordero JB, Cozzolino M, Lu Y, Vidal M, Slatopolsky E, Stahl PD, Barbieri MA, Dusso A (2002): 1,25-dihydroxyvitamin D downregulates cell membrane growth- and nuclear growth-promoting signals by the epidermal growth factor receptor.
J. Biol. Chem. 277: 28965-28971

Cornwell ML, Camstock GW, Holick MF, Bush TL (1992): Prediagnostic serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and malignant melanoma.
Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. 9(3): 109-12

Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE, Falconer G, Green CL (1995): Rates of bone loss in post-menopausal women randomly assigned to one of two dosages of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* 61: 1140-145

Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R (2005): Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporosis Int.* 16: 713-716

de Boland AR, Norman AW (1990): Influx of extracellular calcium mediates 1,25-dihydroxyvitamin D₃ dependent transcalcitachia (the rapid stimulation of duodenal Ca²⁺ transport). *Endocrinology* 127: 2475-2480

DeLuca HF, Cantorna MT (2001): Vitamin-D: its role and uses in immunology. *FASEB J.* 15: 2579-85

deVries E, Bray FI, Coebergh JW, Parkin DM (2003): Changing epidemiology of malignant cutaneous melanoma in Europe 1953-1997: rising trends in incidence and mortality but recent stabilization in western Europe 1953-1997 and decreases in Scandinavia. *Int. J. Cancer* 107(1): 119-126

deVries E, Soerjomataram I, Houterman S, Louwman MW, Coebergh JW (2007): Decreased risk of prostate cancer after skin cancer diagnosis: a protective role of ultraviolet radiation? *Am. J. Epidemiol.* 165(8): 96-72

deVries, Houterman S, Janssen-Heijnen ML, Nijsten T, van de Schans SA, Eggermont AM, Coebergh JW (2007): Up-to-date survival estimates and historical trends of cutaneous malignant melanoma in the south-east of The Netherlands. *Ann. Oncol.* 18(6): 1110-6

Desai SS, Appel MC, Baran DT (1986): Differential effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on cytosolic calcium in two human cell lines (HL-60 and U-937). *J. Bone Miner. Res.* 1: 497-501

Dorval T, Negrier S, Chevreau C, Avril MF, Baume D, Cupissol D, Oskam R, de Peuter R, Vinke J, Herrera A, Escudier B (1999): Randomized trial of treatment with cisplatin and interleukin-2 either alone or in combination with interferon-alpha-2a in patients with metastatic melanoma: a Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer Multicenter, parallel study. *Cancer* 85: 1060-1066

Durnam DM, Hoffman JS, Quaife CJ, Benditt EP, Chen HY, Brinster RL, Palmiter RD (1984): Induction of mouse metallothionein-1 mRNA by bacterial endotoxin is independent of metals and glucocorticoid hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 1052-6

Duval D, Durant S, Homo-DeLarch F (1983): Nongenomic effects of steroids: interactions of steroid molecules with membrane structures and functions. *Biochem. Biophys. Acta.* 737: 497-501

Elias J, Marian B, Edling C, Lachmann B, Noe CR, Rolf SH, Schuster I (2003): Induction of apoptosis by vitamin D metabolites and analogs in a glioma cell line. *Recent Results Cancer Res.* 164: 319-332

Elwood JM, Gallagher RP, Hill GB, Pearson JC (1985): Cutaneous melanoma in relation to intermittent and constant sun exposure – the Western Canada Melanoma Study. *Int. J. Cancer* 35: 427-433

Elwood JM, Jopson J (1997): Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int. J. Cancer* 73(2): 198-203

Erben RG, Scutt AM, Miao DS, Kollenkirchen U, Haberey M (1997): Short term treatment of rats with high dose 1,25-dihydroxyvitamin-D₃ stimulates bone formation and increases the number of osteoblast precursor cells in bone marrow. *Endocrinology* 138: 4629-4635

Erben RG, Soegiarto D, Weber K, Zeitz U, Lieberherr M, Gniadecki R, Möller G, Adamski J, Balling R (2002): Deletion of Deoxyribonucleic Acid Binding Domain of the Vitamin D Receptor Abrogates Genomic and Nongenomic Functions of Vitamin D. *Mol. Endocrinol.* 16: 1524-1537

Esser R, Conforti A, Kelley MC, Wanek L, Stern S, Glass E, Morton DL (1999): Efficacy of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and selective complete lymph node dissection as a therapeutic procedure for early-stage melanoma. *Ann. Surg. Oncol.* 6: 442-449

Esvelt RP, Schnoes HK, DeLuca HF (1978): Vitamin-D₃ from rat skin irradiated in vitro with ultraviolet light. *Arch. Biochem. Biophys.* 188: 282-286

Falkson CI, Ibrahim J, Kirkwood JM, Coates AS, Atkins MB, Blum RH (1998): Phase III trial of dacarbazine versus dacarbazine with interferon alpha-2b versus dacarbazine with tamoxifen versus dacarbazine with interferon alpha-2b and tamoxifen in patients with metastatic malignant melanoma: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *J. Clin. oncol.* 16: 1743-1751

Feher JJ, Jullmer CS, Wassermann RH (1992): The role of facilitated diffusion of calcium by calbindin in intestinal calcium absorption. *Am. J. Physiol.* 262: 517-526

Feldman D, Chen T, Hurst M, Colston K, Karasek M, Cone C (1980): Demonstration of 1 α -25(OH)₂-Dihydroxyvitamin-D₃ receptors in human skin biopsies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 1463-5

Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, Kirkner GJ, Hankinson SE, Hollis BW, Giovannucci EL (2004): Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13(9): 1502-1508

Freedman DM, Dosemeci M, McGlynn K (2002): Sunlight and mortality from breast, ovarian, colon, prostate, and non-melanoma skin cancer: a composite death certificate based case control study. *Occup. Environ. Med.* 59(4): 257-262

Friedman PA, Gesek FA (1993): Vitamin-D₃ accelerates PTH-dependent calcium transport in distal convoluted tube cells. *Am. J. Physiol.* 265: 300-308

Friedman PA, Gesek FA (1995): Cellular calcium transport in renal epithelia: measurement, mechanisms and regulations. *Physiol. Rev.* 75: 429-471

- Gallagher JC, Riggs BL, Eisman J, Hamstra A, Arnaud SB, DeLuca HF (1979): Intestinal calcium adsorption and serum Vitamin D metabolites in normal subjects and osteoporotic patients: effect of age and dietary calcium. *J. Clin. Invest.* 64: 729-36
- Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, Melchi CF (2005): Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur. J. Cancer* 41(1): 45-60
- Garbe C, Buttner P, Weiss J, Soyer HP, Stocker U, Kruger S, Roser M, Weckbecker J, Panizzon R, Bahmer (1994): Risk factors for developing cutaneous melanoma and criteria for identifying persons at risk: multicenter case-control study of the Central Malignant Melanoma Registry of the German Dermatological Society. *J. Invest. Dermatol.* 102(5): 695-9
- Garbe C, Buttner P, Bertz J, Burg G, d'Hoedt B, Drepper H, Guggenmoos-Holzmann I, Lechner W, Lippold A, Orfanos CE (1995): Primary cutaneous melanoma. Prognostic classification of anatomic location. *Cancer* 75(10): 2492-8
- Garbe C, Blum A. (2001): Epidemiology of cutaneous melanoma in Germany and worldwide. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 14: 280-290
- Garbe C, Ellwanger U, Tronnier M, Brocker EB, Orfanos CE (2002): The New American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma: a critical analysis based on data of the German Central Malignant Melanoma Registry. *Cancer* 94: 2305-2307
- Garland CF, Garland FC (1980): Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int. J. Epidemiol.* 9: 227-231
- Garland CF, Comstock GW, Garland FC, Helsing KJ, Shaw EK, Gorham ED (1989): Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer : eight year prospective study. *Lancet* 2 (8673): 1176-1178
- Garland FC, Garland CF, Gorham ED, Miller MR, Brodine SK, Fallon A, Balazs LL (1990): Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev. Med.* 19: 614-622
- Garland CF, Garland FC, Gorham ED (1991): Can colon cancer incidence and death rates be reduced with calcium and vitamin D? *Am. J. Clin. Nutr.* 54: 193-201
- Gascon-Barré M, Demers C, Ghrab O, Theodoropoulos C, Lapointe R, Jones G, Valiquette L, Ménard D (2001): Expression of CYP27A, a gene encoding a vitamin D-25 hydroxylase in human liver and kidney. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 54: 107-15
- Gass R, Bopp M (2005): Mortality from malignant melanoma: epidemiological trends in Switzerland. *Schweiz. Rundsch. Med. Prax.* 94(34): 1295-300

Geilen CC, Bektas M, Wieder T, Orfanos CR (1997): 1 α ,25-Dihydroxyvitamin-D₃ induces sphingomyelin hydrolysis in HaCaT cells via tumor necrosis factor α . J. Biol. Chem. 272: 8997-9001

Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng CH, Lee JJ, Balch CM, Reintgen DS, Ross MI (1999): Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 61 stage I and II melanoma patients. J. Clin. Oncol. 17: 976-983

Gilchrest BA, Eller MS, Geller AC, Yaar M (1999): The pathogenesis of melanoma induced by ultraviolet radiation. N. Engl. J. Med. 340: 1341-1348

Giovannucci E (2005): The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). Cancer Causes Control 16(2): 83-95

Gniadecki R (1996): Stimulation versus inhibition of keratinocytes growth by 1,25-dihydroxyvitamin-D₃: dependence on cell culture conditions. J. Invest. Dermatol. 106: 510-516

Gorham ED, Garland FC, Garland CF (1990): Sunlight and breast cancer incidence in the USSR. Int. J. Epidemiol. 19: 614-622

Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, Newmark HL, Giovannucci E, Wei M, Holick MF (2005): Vitamin D and prevention of colorectal cancer. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 97: 179-194

Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, Newmark HL, Giovannucci E, Wei M, Holick MF (2007): Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention. A quantitative meta analysis. Am. J. Prev. Med. 32(2): 210-216

Grant WB (2002): An estimate of premature cancer mortality in the US due to inadequate doses of solar ultraviolet-B-radiation. Cancer 94: 1867-1875

Grant WB, Garland CF (2006): The association of solar ultraviolet B (UVB) with reducing risk of cancer: multifactorial ecologic analysis of geographic variation in age-adjusted cancer mortality rates. Anticancer Res. 26(4A): 2687-2699

Grant WB (2007): An ecological study of cancer mortality in Spain with respect to indices of solar UVB irradiance and smoking. Int. J. Cancer 120(5): 1123-1128

Gray RW, Omdahl JL, Ghazarian JG, DeLuca HF (1972): 25-Hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase: subcellular location and properties. J. Biol. Chem. 247: 7528-7532

Green MH, Clark WH Jr., Tucker MA, Elder DE, Kraemer KH, Guerry D, Witmer WK, Thompson J, Matozzo I, Fraser MC (1985a): Acquired precursors of cutaneous malignant melanoma. The familial dysplastic nevus syndrome. N. Engl. J. Med. 312: 91-97

Green MH, Clark WH Jr., Tucker MA, Kraemer KH, Elder DE, Fraser MC (1985b): High risk of malignant melanoma in melanoma-prone families with dysplastic nevi. Ann. Intern. Med. 102(4): 458-65

Gregori M, Giarratana N, Smirolto S, Uskokovic M, Adorini L (2002): 1 α ,25-dihydroxyvitamin-D₃ analog enhances regulatory t-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 51: 1367-74

Griffin M, Kumar R (2003): Effects of 1 α ,25-dihydroxyvitamin-D₃ and its analogs on dendritic cell function. *J. Cell. Biochem.* 88: 323-326

Grin-Jorgensen CM, Casso EM, Grant-Kels JM (1992): Spitz nevi. *J. Am. Acad. Dermatol.* 27(6 Pt 1): 901-13

Grover, Morley R (2001): Vitamin D deficiency in veiled or dark skinned pregnant women. *Med. J. Aust.* 175: 251-2

Gruis NA, van der Velden PA, Sandkuij LA, Prins DE, Weaver-Feldhaus J, Kamb A, Bergman W, Frants RR (1995): Homozygotes for CDKN2 (p16) germline mutation in Dutch familial melanoma kindreds. *Nat. Genet.* 10: 351-353

Gutierrez S, Javed A, Tennant DK, van Rees M, Montecino M, Stein GS, Stein JL, Lian JB (2002): CCAAT/enhancer-binding proteins (C/EBP) β and δ activate osteocalcin gene transcription and synergize with Runx2 at the C/EBP element to regulate bone-specific expression. *J. Biol. Chem.* 277: 1316-1323

Gutman M, Inbar M, Klausner JM, Chaitchik S (1993): Malignant melanoma in different ethnic groups in Israel. Incidence and biological behavior. *Cancer* 71: 2746-2750

Haddad JG (1987): Traffic, binding and cellular access of Vitamin-D sterols. In: *Bone and Mineral Research*, vol.5, Peck WA (ed.) New York: 281-308

Haddad JG (1992): Clinical aspects of measurements of plasma Vitamin-D sterols and the Vitamin-D binding proteins. In: *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. Coe F: Favus MJ (eds.) New York Raven: 195-216

Hanada K, Awamura D, Nakano H, Hashimoto I (1995): Possible role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced metallothionein in photoprotection against UVB injury in mouse skin and cultured rat keratinocytes. *J. Dermatol. Sci.* 9: 203-208

Hanchette CL, Schwartz GG (1992): Geographic patterns of prostate cancer mortality. *Cancer* 70: 2861-2869

Haussler MR (1986): Vitamin D receptors: nature and function. *Annu. Rev. Nutr.* 6: 527-562

Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A (2003): Calcium adsorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J. Am. Coll. Nutr.* 22: 142-6

Henan PJ, English DR, Holman CD, Armstrong BK (1991): Survival among patients with clinical stage I cutaneous malignant melanoma diagnosed in Western Australia in 1975/76 and 1980/1981. *Cancer* 65: 2079-87

Heine G, Anton K, Henz BM, Worm M (2002): 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits anti-CD40 plus IL-4-mediated IgE production in vitro. *Eur. J. Immunol.* 32: 3395-3404

Henry HL (1979): Regulation of the hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D₃ in vivo and in primary cultures of chick kidney cells. *J. Biol. Chem.* 254: 2722-2729

Hersey P (2006): Apoptosis and melanoma: how new insights are effecting the development of new therapies for melanoma. *Curr. Opin. Oncol.* 18: 189-96

Hewison M, Zehnder D, Chakraverty R, Adams JS (2004): Vitamin D and barrier function: a novel role for extra-renal 1 α -hydroxylase. *Mol. Cell. Endocrinol.* 215: 31-38

Hintzpeter B, Mensink GBM, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C (2007): Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1-11

Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT, Anderson RR, Blank ICH, Parrisch JA und Elias P (1980): Photosynthesis of preVitamin-D₃ in human skin and the physiologic consequences. *Science* 210: 203-205

Holick MF, Smith E, Pincus S (1987): Skin as a site of Vitamin-D synthesis and target tissue for 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃. *Arch. Dermatol.* 123: 1677-83

Holick MF, McCollum Award Lecture (1994): Vitamin-D – new horizons for the 21st century. *Am. J. Clin. Nutr.* 60: 619-30

Holick MF, Reichrath J (1999a): Clinical Utility of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and its Analogues for the treatment of Psoriasis. In: Holick MF (Hrsg.). *Vitamin D: physiology, molecular biologic and clinical aspects.* The Humana Press Inc., Totowa New York: 357-373

Holick MF (1999b): Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action and clinical application. In: Favus MJ (ed.). *Primer on the metabolic bone disease and mineral metabolism.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 1999: 92-8

Holick MF (2003a): Vitamin-D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Favus MJ. *Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism,* 5th ed. Washington DC. American Society for Bone and Mineral Research: 129-37

Holick WF, Jensen M (2003b): *The UV Advantage.* New York, NY:iBooks 2003.

Holick MF (2003c): Evolution and function of vitamin D. *Recent results cancer Res.* 164: 3-28

Holick MF (2004a): Vitamin-D: importance in the prevention of cancer, type 1 diabetes, heart disease and osteoporosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 362-71

Holick MF (2004b): Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 1678-1688

Holick MF, Siris ES, Binkley N, Beard MK, Khan A, Katzer JT, Petruschke RA, Chen E, de Papp AE (2005): Prevalence of vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90: 3215-24

Holick MF (2006): High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Maryo. Clin. Proc.* 81: 353-73

Holick MF, Garabedian M (2006): Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Favus MJ (ed.). *Primer on the metabolic bone disease and disorders of mineral metabolism*. 6th ed. Washington DC. American Society for Bone and Mineral Research 129-37

Holick MF: Vitamin D Deficiency (2007): *N. Engl. J. Med.* 357: 266-82

Holly EA, Kelly JW, Shpall SN, Chiu SH (1987): Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* 17(3): 459-68

Holtrop ME, Cox KA, Clark MB, Holick MF, Anast CS (1981): 1,25-dihydroxycholecalciferol stimulates osteoclasts in rat bones in the absence of parathyroid hormone. *Endocrinology* 108: 2293-301

Horiskoshi T, Ito S, Wakamatsu K, Onderka H, Eguchi H (1994): Evaluation of melanin-related metabolites as markers of melanoma progression. *Cancer* 73: 629-636

Ishizuka S (1996): In: *Metabolism of Vitamin-D₃*. Tokyo, Hachioji Press Co. Ltd.: 367-82

Jablonski NG, Chaplin G (2000): The evolution of human skin coloration. *J. Hum. Evol.* 39: 57-106

Jacobs ET, Giuliano AR, Martinez ME, Hollis BW, eid ME, Marshall JR (2004): Plasma levels of 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and subsequent risk of prostate cancer. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 89-90: 533-537

Jaques PF, Felson DT, Tucker KL, Mahnken B, Wilson PWF, Rosenberg IH (1997): Plasma 25-hydroxyvitamin D and its determinants in an elderly population sample. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 929-936

Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ (2004): Cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* 54: 8-29

Ji Y, Studzinski GP (2004): Retinoblastoma protein and CCAAT/enhancer-binding protein beta are required for 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced monocytic differentiation of HL60 cells. *Cancer Res.* 64(1): 370-377

Johnson JA, Kumar R (1994): Renal and intestinal calcium transport: role of Vitamin-D and Vitamin-D dependent calcium binding proteins. *Sem. Nephrol.* 14: 119-128

Jones G, Vriezen D, Lohnes D, Palda V, Edwards NS (1987): Side chain hydroxylation of Vitamin-D₃ and its physiological implications. *Steroids* 49: 29-55

Jones G, Strugnel AS, DeLuca HF (1998): Current understanding of the molecular actions of Vitamin-D. *Physiol. Rev.* 78: 1193-231

Karin M (1985): Metallothioneins. *Proteins in search of function.* *Cell* 41: 9-10

Karp CM, Pan H, Zhang M, Buckley DJ, Schuler LA, Buckley AR (2004): Identification of HRPAP20: a novel phosphoprotein that enhances growth and survival in hormone-responsive tumor cells. *Cancer Res.* 64: 1016-1025

Karp CM, Shukla MN, Buckley DJ, Buckley AR (2007): HRPAP20: A novel calmodulin-binding protein that increases breast cancer cell invasion. *Oncogene* 26(12): 1780-8

Katayama I, Minatohara K, Yokozeki H, Nishioka K (1996): Topical Vitamin D₃ downregulates IgE-mediated murine biphasic cutaneous reactions. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 11: 71-76

Kaune R, Munson S, Bikle DD (1994): Regulation of Calmodulin binding to the ATP extractable 110kDa protein (myosin I) from chicken duodenal brush-border by 1,25(OH)₂D₃. *Biochem. Biophys. Acta.* 1190: 329-336

Kennedy C, Bajdik CD, Willemze R, deGruijl FR, Bouwes Bavnivk JN (2003): The Influence of Painful Sunburns and Lifetime Sun Exposure on the Risk of Actinic Keratoses, Seborrhic Warts, Melanocytic Nevi, Atypical Nevi, and Skin Cancer. *J. Invest. Dermatol.* 120(6): 1087-1093

Ketley NJ, Allen PD, Ketley SM, Newland AC (1997): Modulation of idarubicin-induced apoptosis in human acute myeloid leukaemia blasts by all-trans retinoic acid, 1,25(OH)Vitamin-D₃, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 90: 4578-87

Koh HK (1991): Cutaneous melanoma. *N. Engl. J. Med.* 325: 171-182

Koizumi S, Sone T, Otaki N, Kimura M (1985): Cd²⁺ induced sythesis of methallothionein in HeLa cells. *Biochem. J.* 227: 879-86

Kollenkirchen U, Fox J, Walters MR (1991a): Normocalcemia without hyperparathyroidism in vitamin D deficient rats. *J. Bone Mineral Res.* 6: 273-278

Kollenkirchen U, Walters AR, Fox J (1991b): Plasma Ca influences vitamin D metabolite levels as rats develop vitamin D deficiency. *Am. J. Physiol.* 260: 447-452

- Komenaka I, Hoerig H, Kaufman HL (2004): Immuntherapie for melanoma. Clin. Dermatol. 22: 251-265
- Koster HPG, Hartog A, VanOs CN, Bindels RJM (1995): Calbindin D28k facilitates cytosolic calcium diffusion without interfering with calcium signaling. Cell Calcium 18: 187-197
- Kricker A, Armstrong BK, English DR, Heenan PJ (1991): Pigmentary and cutaneous risk factors for non-melanocytic skin cancer – a case control study. Int. J. Cancer 48(5): 650-62
- Kruse HP, Kuhlencordt F (1994): Erkrankungen der Nebenschilddrüsen und Störungen des Kalzium-Phosphat-Stoffwechsels. In: Gross R, Schölmerich P, Gerol W (Hrsg.): Die Innere Medizin, 8. Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart: 874-87
- Lamb J, Ramaswamy S, Ford HL, Contreras B, Martinez RV, Kittrell FS, Zahnow CA, Patterson N, Golub TR, Ewen ME (2003): A mechanism of cyclin D1 action encoded in the patterns of gene expression in human cancer. Cell 114: 323-334
- Lee J, Youn JI (1998): The photoprotective effect of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃ on ultraviolet light B-induced damage in keratinocyte and its mechanism of action. J. Dermatol. Sci. 18: 11-18
- Lefkowitz ES, Garland CF (1994): Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. Int. J. Epidemiol. 23: 1133-1136
- Lehmann B, Knuschke P, Meurer M (2000): UVB-induced conversion of 7-dehydrocholesterol to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) in the human keratinocyte line HaCaT. Photochem. Photobiol. 6: 803-809
- Lehmann B, Genehr T, Knuschke P, Pietzsch J, Meurer M (2001): UVB-induced conversion of 7-dehydrocholesterol to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in an in vitro human skin equivalent model. J. Invest. Dermatol. 117: 1179-1185
- Lehmann B, Sauter W, Knuschke P, Dreßler S, Meurer M (2003): Demonstration of UVB-induced synthesis of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) in human skin by microdialysis. Arch. Dermatol. Res. 295: 24-28
- Lehmann B, Querings K, Reichrath J (2004): Vitamin D and skin: new aspects for dermatology. Exp. Dermatol. 13: 11-15
- Leiter U, Garbe C. Epidemiology of melanoma and non –melanoma skin cancer – the role of sunlight: in press
- Lemann J (1993): Intestinal absorption of calcium, magnesium und phosphorus. In: Primer on Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, 2nd ed. Favus MJ (ed.) New York, Raven Press: 46-50
- Lemish WM, Heenan PJ, Holman CD, Armstrong BK (1983): Survival from preinvasive and invasive malignant melanoma in Western Australia. Cancer 52(3): 850-5

Lian JB, Stein GS (1993): Vitamin-D regulation of osteoblast growth and differentiation. In: Nutrition and Gene Expression. Berdanier CD, Hargrove JL (eds.) Boca Raton, FL; CRP Press: 391-429

Li YC, Amling M, Pirro AE, Priemel M, Meuse J, Baron R, Delling G, Demay M (1998): Normalization of Mineral Ion Homeostasis by Dietary Means Prevents Hyperparathyroidism, Rickets, and Osteomalacia, but not Alopecia in Vitamin-D Receptor-Ablated Mice. *Endocrinology* 139: 4391-4396

Li P, Li C, Zhao X, Zhang X, Nicosia SV, Bai W (2004): P27 (Kip 2) stabilization and G1 arrest by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in ovarian cancer cells mediated through down-regulation of cyclin E/cyclin-dependant kinase 2 and Skp1-Cullin-F-box protein/Skp2 ubiquitin ligase. *J. Biol. Chem.* 279: 25260-25267

Liebermann MW, Beach LR, Palmiter RD (1983): Ultraviolet radiation induced metallothionein-I gene activation is associated with extensive DNA demethylation. *Cell* 35: 207-14

Liu L, Khastigir A, VcCauley J, Dumm ST, Morrissey JH, Christakos S, Hughes MR, Bordeau JE (1996a): RT-PCR microlocalization of mRNAs for calbindin-D28k and Vitamin-D receptor in murine nephron. *Am. J. Physiol.* 270: 677-681

Liu L, Lee MH, Cohen M, Bommakanti M, Freedman LP (1996b): Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D₃ leads to the induced differentiation of the melanocytic cell line U937. *Genes Dev.* 10: 142-153

Lohnes D, Jones G (1992): Further metabolism of 1 α ,25-dihydroxy Vitamin-D₃ in target cells. *J. Nutr. Sci. Vitam. Special Issue*: 75-78

Lu Y, Chen TC, Holick MF (1992): Influence of season and time of day on the synthesis of Vitamin-D₃. In: Biological Effects of Light. Holick MF, Klingman AM (eds.) Berlin Walter de Gruyter: 57-61

MacLaughlin JA, Anderson RR, Holick MF (1982): Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of preVitamin-D₃ and its photoisomers in human skin. *Science* 216: 1001-1003

MacLaughlin JA, Castonguay MA, Holick MF (1991): Cultured human Keratinocytes cannot metabolize Vitamin-D₃ to 25-hydroxyVitamin-D₃. *FEBS* 282(2): 409-11

Manggau M, Kim DS, Ruwisch L, Vogler R, Korting HC, Schäfer-Korting M, Kleuser B (2001): 1 α ,25-Dihydroxyvitamin-D₃ protects human keratinocytes from apoptosis by the formation of sphingosin-1-phosphate. *J. Invest. Dermatol.* 117: 1241-1249

Mason RS, Halliday CJ (2001): 1,25 Dihydroxyvitamin-D contributes to photoprotection in skin cells. In: Vitamin-D Endocrine System. Structural, Biological, Genetic and Clinical Aspects. Norman AE, Bouillon R, Thomasset M (eds.) Riverside, CA: University of California: 605-8

- Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R (1994): Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin-D₃. *Diabetologia* 37: 552-8
- Matsumoto K, Azuma Y, Kiyoki M, Okumura H, Hashimoto K, Yoshikaea K (1991): Involvement of endogenously produced 1,25-hydroxyvitamin-D₃ in the growth and differentiation of human keratinocytes. *Biochem. Biophys.* 1092: 311-318
- Matsuoka LY, Wortsman J, Dannenberg MJ, Hollis B, Lu Z, Holick MF (1992): Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependant photosynthesis of Vitamin-D₃. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75: 1099-1103
- McLaughlin J, Holick MF (1985): Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D₃. *J. Clin. Invest.* 76: 1536-8
- Malabana A, Veronikis IE, Holick MF (1998): Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 351: 805-6
- Milde P, Hauser U, Simon T, Mall G, Ernst V, Haussler MR, Frosch P, Rautenberg EW (1991): Expression of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃ receptors in normal and psoriatic skin. *J. Invest. Dermatol.* 97: 230-6
- Milde P (1991): Vitamin D und die Haut: neue Aspekte und die Perspektiven. *Hautarzt* 42: 671-676
- Minghetti PP, Norman AW (1988): 1,25(OH)₂-Vitamin D₃ receptors: Gene regulation and genetic circuitry. *FASEB J* 2: 3043-53
- Mitschele T, Diesel B, Friedrich M, Meineke V, Maas RM, Gärtner BC, Kamradt J, Meese E, Tilgen W, Reichrath J (2004): Analysis of the Vitamin D System in Basal Cell Carcinomas (BCCs). *Lab. Invest.* 84(6): 693-702
- Mizoue T (2004): Ecological study of solar radiation and cancer mortality in Japan. *Health Phys.* 87(5): 532-538
- Morales Suárez-Varela M, Llopis-González A, Lacasana M, Ferrandiz-Ferragud J (1990): Trends in malignant melanoma and other skin cancers in Spain, 1975-1983, and their relation to solar radiation intensity. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 10 (4,5): 245-53
- Müller-Wieprecht V, Riebeling C, Stooss A, Orfanos CE (2000): Bcl-2 transfected HaCaT keratinocytes resist apoptotic signals of ceramides, tumor necrosis factor alpha and 1alpha,25-dihydroxyvitamin-D. *Arch. Dermatol. Res.* 292: 455-62
- Need AG, Morris HA, Horowitz M, Nordin C (1993): Effects of the skin thickness, age body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* 58: 882-5
- Need AG, Horowitz M, Morris HA, Nordin BC (2000): Vitamin D status: effects on parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 1577-81

Nelemans PJ, Groenendal H, Kiemeney LA, Rampen FH, Ruiter DJ, Verbeek AL (1993): Effect of intermittent exposure to sunlight on melanoma risk among indoor workers and sun-sensitive individuals. *Environ. Health Perspect.* 101: 252-255

Nemere I, Yoshimoto Y, Norman AW (1984): Calcium transport in perfused duodena from normal chicks: enhancement within fourteen minutes of exposure to 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology* 115: 1476-1483

Nemere I, Norman AW (1986): Parathyroid hormone stimulates calcium transport in perfused duodena from normal chicks: comparison with the rapid (transcaltachic) effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology* 119: 1406-1408

Nemere I, Norman AW (1987): The rapid, hormonally stimulated transport of calcium (transcaltachia). *J. Bone Miner. Res.* 2: 167-169

Nemere I, Norman AW (1990): Transcaltachia, vesicular calcium transport and microtubule associated calbindin-D28K: emerging views of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ mediated intestinal calcium adsorption. *Miner. Elektrolyte Metab.* 16: 109-114

Norman AW (1998): Receptors for 1 α ,25(OH)₂D₃: Past, Present, and Future. *J. Bone Min. Res.* 13: 1360-1369

Norman AW, Okumura WH, Bishop JE, Henry HL (2002): Update on biological actions of 1 α ,25(OH)₂-Vitamin D₃ (rapid effects) and 24R,25(OH)₂-Vitamin D₃. *Moll. Cell. Endocrinol.* 197: 1-13

Ohnaka T (1993): Health effects of ultraviolet radiation. *Ann. Physiol. Anthropol.* 12(1): 1-10

Ohyama Y, Ozono K, Uchida M, Shinki T, Klato S, Suda T, Yamamoto O, Noshiro M, Kato Y (1994): Identification of Vitamin-D-responsive element in the 5'-flanking region of the rat 25-hydroxy Vitamin-D₃ 24-hydroxylase gene. *J. Biol. Chem.* 269: 545-550

Okasaki T, Bell RM, Hannun YA (1989): Sphingomyelin turnover induced by Vitamin-D₃ in HL-60 cells. Role in cell differentiation. *J. Biol. Chem.* 264: 19076-19080

Okuda KI, Usui E, Ohyama Y (1995): Recent progress in enzymology and molecular biology of enzymes involved in Vitamin-D metabolism. *J. Lipid Res.* 36: 1641-1652

Ooms ME, Lips P, Roos JC, van der Vijgh WJF, Popp-Snijders C, Bezemer PD, Bouter LM (1995): Vitamin D status and sex hormone binding globulin: determinants of bone turnover and bone mineral density in elderly women. *J. Bone Mineral Res.* 10: 1077-1184

Osborne JE, Hutchinson PE (2002): Vitamin-D and systemic cancer: is this relevant to malignant melanoma? *British Journal of Dermatology* 147: 1997-213

Osterlind A, Tucker MA, Stone BJ, Jensen OM (1988): The Danish case-control study of cutaneous malignant melanoma. II Importance of UV-light exposure. *Int. J. Cancer* 42: 319-324

Palm TA (1890): The geographical distribution and etiology of rickets.
Practitioner 45: 270-79

Parfitt AM, Gallagher JC, Heaney RP, Johnson CC, Neer P, Whedon G (1982):
Vitamin D and bone disease in the elderly. Amer. J.Clin. Nutr. 36: 1014-31

Peller S (1936): Carcinogenesis as a means of reducing cancer mortality.
Lancet 2: 552-556

Peller S, Stephenson CS (1937): Skin irritation and cancer in the United States Navy.
Am. J. Med. Sci. 194; 326-333

Platz EA, Leitzmann MF, Hollis BW, Willett WC, Giovannucci E (2004): Plasma 1,25-dihydroxy- and 25-hydroxyvitamin D and subsequent risk of prostate cancer.
Cancer Causes Control 15: 255-265

Porojnicu A, Robsahm TE, Berg JP, Moan J (2007): Season of diagnosis is a predictor of cancer survival. Sun-induced vitamin D may be involved: a possible role of sun-induced Vitamin D. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 103: 675-8

Prystowsky JH, Muzio PJ, Sevrans TL (1996): Effect of UVB phototherapy and oral calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D₃) on Vitamin D photosynthesis in patients with psoriasis. J. Am. Acad. Dermatol. 25: 690-695

Querings K, Reichrath J (2006): A plea for detection and treatment of vitamin D deficiency in patients under photoprotection, including patients with xeroderma pigmentosum and basal cell nevus syndrome. Cancer Causes Control 15(2): 219

Querings K, Girndt M, Geisel J, Georg T, Tilgen W, Reichrath J (2006): 25-Hydroxyvitamin D-deficiency in renal transplant recipients: an underrecognized health problem. J. Clin. Endocrinol. Metab. 91(2): 526-529

Reichel H, Koeffler H.P., Norman A.W. (1989a): The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. N. Engl. J. Med. 320: 980-91

Reichel H, Norman A W (1989b): Systemic effects of vitamin D₃.
Ann. Rev. Med. 40: 71-78

Reichel H (1996): Vitamin D-Synthese und Stoffwechsel, Produktmonographie Rocaltrol; Ritz E (Hrsg.), Schattauer Verlag, Stuttgart: 1-39

Reichrath J, Müller SM, Kerber A, Baum HP, Bahmer FA (1997a): Biologic effects of topical calcipotriol (MC 903) treatment in psoriatic skin.
J. Am. Acad. Dermatol. 36: 19-28

Reichrath J, Perez A, Chen TC, Kerber A, Bahmer FA, Hollick MF (1997b). The effectiveness of topical 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) application in the treatment of psoriasis: an immunohistological evaluation.
Acta. Derm. Venerol. (Stockh.) 77: 268-272

Reichrath J (2001): Will analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) open a new era in cancer therapy? *Onkologie* 24: 128-133

Reichrath J (2003): Protecting against adverse effects of sun protection?
J. Am. Acad. Dermatol. 49: 1204-1206

Reichrath J, Querings K (2004): No evidence for reduced 25-hydroxyvitamin D serum levels in melanoma patients. *Cancer causes Control* 15: 97-98

Rigge BL, Melton IJ (1983): Evidence of two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Amer. J. Med.* 75: 899-901

Robsahm TE, Tretli S, Dahlback A, Moan, J (2004): Vitamin D₃ from sunlight may improve the prognosis of breast-, colon- and prostate cancer (Norway).
Cancer Causes and Control 15: 149-158

Rocker D, Ravid A, Liberman UA, Garach-Jehoshua O, Koren R (1994): 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ potentiates the cytotoxic effect of TNF on human breast cancer cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 106: 157-62

Sauer B, Ruwisch L, Kleuser B (2003): Antiapoptotic action of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in primary human melanocytes.
Melanoma Res. 13(4): 339-47

Sauter ER, Herlyn M (1998): Molecular biology of human melanoma development and progression. *Mol. Carcinog.* Nov. 23(3): 132-43

Schlagenhauff B, Schitteck B, Ellwanger U, Stroebel W, Blum A, Schwartz M, Rassner G, Garbe C (2000): Significance of serum protein S100 levels in screening for melanoma metastasis: does protein S100 enable early detection of melanoma recurrence? *Melanoma Res.* 10: 451-9

Schwartz Z, Schlader DL, Swain LD, Boyan, BD (1988): Direct effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ on growth zone and resting zone chondrocyte membrane alkaline phosphatase and phospholipase A2 specific activities. *Endocrinology* 123: 2878-2884

Schwartz GG, Hulka BS (1990): Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res.* 10: 1307-1311

Schwartz GG, Whitlatch LW, Chen TC, Lokeshwar BL, Holick MF (1998): Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D₃ from 25-hydroxyvitamin D₃.
Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 7: 391-95

Schuessler M, Astecker N, Herzig G, Vorisek G, Schuster I (2001): Skin is an autonomous organ in synthesis, two-step activation and degradation of Vitamin-D₃: CYP27 in epidermis completes the set of essential Vitamin-D₃-hydroxylases.
Steroids 66: 399-408

Scotto J, Fears TR (1987): The association of solar ultraviolet and skin melanoma incidence among Caucasians in the United States. *Cancer Invest.* 5: 275-283

Segrev IN, Rhoten WB (1994): Video imaging of intracellular calcium in insulinoma cells: effects of 1,25-(OH)₂D₃. In: Proceedings of the Ninth Workshop on Vitamin D, Orlando, FL, May 28-June 2: 355-356

Selles J, Boland R (1991): Evidence on the participation of the 3',5'-cyclic AMP pathway in the nongenomic action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in cardiac muscle. *Mol. Cell. Endocrinol.* 82: 229-235

Sharpless SM, Das Gupta TK (2003): Surgery for metastatic melanoma chemoresistance. *Oncogene.* 519(22): 3138-3151

Slovik DM, Adams JS, Neer RM, Holick MF, Potts JT Jr. (1981): Deficient production of 1,25-dihydroxyvitamin D in elderly osteoporotic patients. *N. Engl. J. Med.* 305: 371-4

Snijder MB, van Schoor NM, Pluijm SM, van Damm RM, Visser M, Lips P (2006): Vitamin D status in relation to one-year risk of recurrent falling in older men and women. *J. Clin. Endocrinol Metab.* 91: 2980-2985

Sober AJ, Albert LS (1990): Metastasis of an untreated thin melanoma in a very elderly patient. *Int. J. Dermatol.* 29(9): 669

Solvoll K, Soyland E, Sanstad B, Drevon CA (2000): Dietary habits among patients with atopic dermatitis. *Eur. J. Clin. Nutr.* 54: 93-97

Soong SJ, Harrison RA, McCarthy WH, Urist MM, Balch CM (1998): Factors affecting survival following local, regional, or distant recurrence from localized melanoma. *J. Surg. Oncol.* 67: 228-233

Stang K, Stang A, Stegmaier C, Ziegler H, Eisinger B, Stabenow R, Jockel KH (2000): Descriptive epidemiology of cutaneous malignant melanoma. Analyses of German Cancer Registry data. *Stud. Health Technol. Inform.* 77: 139-142

Sutton AL, MacDonald PN (2003): Vitamin D: more than a "bone-a-fide" hormone. *Mol. Endocrinol.* 17: 777-791

Szipirer S, Szipirer C, Riviere M, Levan G, Maryen P, Cassiman JJ, Wiese R, DeLuca HF (1991): The SP1 transcription factor gene (SP1) and the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor gene (VDR) are colocalized on human chromosomal arm 12q and rat chromosome 7. *Genomics* 11: 168-173

Tangpricha V, Turner A, Spina C, Decastro S, Chen T, Holick MF (2004): Tanning is associated with optimal vitamin D status (serum 25-hydroxyvitamin D concentration) and higher bone mineral density. *Am. J. Clin. Nutr.* 80: 1645-9

Tevini M (1994): Auswirkungen veränderter UVB-Strahlung auf terrestrische Ökosysteme. *Bundesgesundheitsbl. Sonderheft* (Oktober 1994): 41-45

Thomas KK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, Shaw AC, Deraska DJ, Kitch BT, Vamvakas EC, Dick IM, Prince RL, Finkelstein JS (1998): Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N. Engl. J. Med.* 338: 777-83

Thomson TM, Real FX, Murakami S, Cordon-Carlo C, Old LJ, Houghton AN (1988): Differentiation antigens of melanocytes and melanoma: analysis of melanosome and cell surface markers of human pigmented cells with monoclonal antibodies. *J. Invest. Dermatol.* 90: 459-466

Thornalley PJ, Vasak M (1985): Possible role of metallothionein in protection against radiation induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Acta.* 827: 36-44

Tomita Y, Torinuki W, Tagami H (1988): Stimulation of human keratinocytes by Vitamin-D₃ possibly mediates skin pigmentation after sun exposure. *J. Invest. Dermatol.* 90: 82-884

Trang HM, Cole DEC, Rubin LA, Pierratos A, Siru S, Vieth R (1989): Evidence that vitamin D₃ increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D₂. *A. J. Clin. Nutr.* 68: 854-8

Trivedi DP, Doll R, Khaw KT (2003): Effect of four monthly oral vitamin D₃ (cholecalciferol) supplementation on fractures and mortality in men and woman living in the community: randomised double blind controlled trial. *BMJ* 326: 469-75

Underwood JL, DeLuca HF (1984): Vitamin D is not directly necessary for bone growth and mineralization. *Am. J. Physiol.* 246: 493-498

Valrance ME, Welsh J (2004): Breast cancer cell regulation by high-dose vitamin D compounds in the absence of nuclear vitamin D receptor. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 89-90(1-5): 221-225

Van Etten E, Decallone B, Verlinden L, Verstuyf A, Bouillon R, Mathieu C (2003): Analogs of 1 α ,25-Dihydroxyvitamin-D₃ as pluripotent immunomodulators. *J. Cell. Biochem.* 88: 223-226

Vatieghem K, Dehaes P, Bouillon R, Segaert S (2003): Cultured fibroblasts produce non-active Vitamin D metabolites than can be activated by cultured keratinocytes. In: Abstracts twelfth workshop on Vitamin-D, July 6-10, 2003, Maastricht, The Netherlands: 27 (Poster Board 37)

Velluz L, Amiard G (1949): Chimie organique – le precalciferol. *Compt. Rend.* 228: 692-694

Vieth R (1999): Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations and safety. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 842-56

Von Schoultz E, Hansson LO, Djureen J, Hansson J, Kärnell R, Nilsson B, Stigbrand T, Ringborg U (1996): Prognostic value of serum analyses of S-100 β protein in malignant melanoma. *Mel. Res.* 6: 133-7

Wassermann RH, Fullmer CS (1995): Vitamin-D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypothesis. *J. Nutr.* 125: 1971-1979

Webb AR, Kline L, Holick MF (1988): Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D₃ synthesis in human skin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 67: 373-378

Westerdahl J, Olsson H, Masbäck A, Ingvar C, Johnsson N (1995): Is the use of sunscreens a risk factor for melanoma? *Melanoma Res.* 5: 59-65

Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC (2001): Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control* 12(1): 68-82

Whiteman DC, Stickley M, Watt P, Hughes MC, Davis MB, Green AC (2006): Anatomic site, sun exposure, and risk of cutaneous melanoma. *J. Clin. Oncol.* 24(19): 3172-3177

Windaus A, Schenck F, Weder FV (1936): Über das antirachitisch wirksame Bestrahlungsprodukt aus 7-Dehydro-Cholesterin. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 241: 100-103

Wortsman K, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF(2000): Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 690-693

Wu SX, Finch J, Zhong M, Slatoposky E, Grieff M, Brown AJ (1996): Expression of the renal 25-hydroxyvitamin-D-24-hydroxylase gene-regulation by dietary phosphate. *Am. J. Phys.* 40: 203-208

Yamamoto M, Kawanobe Y, Takahashi H, Shimazawa E, Kimura S, Ogata E (1984): Vitamin D deficiency and renal calcium transport in the rat. *J. Clin. Invest.* 74: 507-531

Zanetti R, Rosso S. Sun exposure habits in an Italian population and survival from melanoma (in preparation)

Zhang XD, Wu JJ, Gillespie S, Borrow J, Hersey P (2006): Human melanoma cells selected for resistance to apoptosis by prolonged exposure to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand are more vulnerable to necrotic cell death by Cisplatin. *Clin. Cancer Res.* 12: 1355-1364

Zierold C, Darwish HM, DeLuca HF (1994): Identification of a Vitamin-D-response element in the rat calcidiol (25-hydroxy Vitamin-D₃) 24-hydroxylase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 900-902

Zittermann A (2003): Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *Br. J. Nutr.* 89: 552-572

Zügel U, Steinmeyer A, Giesen C, Asadullah K (2002): A novel immunosuppressive 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ analog with reduced hypercalcemic activity. *J. Invest. Dermatol.* 119: 1434-1442

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Strukturformeln der wichtigsten Metaboliten des Vitamin D-Stoffwechsels (University of Bristol/UK: www.bris.ac-uk/webprojects2002/schepp/vitamind.html).....	4f.
Abb. 2: Schematische Darstellung des Vitamin D-Metabolismus (Modifiziert nach Wolpowitz W, Gilchrest WA (2006): The Vitamin D question: how much do you need and how should you get it? J. Am. Acad. Dermatol. 54(2): 301-17).....	6
Abb. 3: Renale und extrarenale 1,25(OH) ₂ D ₃ -Produktion (Modifiziert nach Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E (2005): Vitamin D. Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 289: 8-28).....	9
Abb. 4: Funktionale Domänen des VDR (Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E (2005): Vitamin D. Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 289: 8-28).....	11
Abb. 5: Dreidimensionale Struktur des VDR (Rotkiewicz P, Sisinka A, Kolinski A, DeLuca HF (2001): Model of three-dimensional structure of vitamin D receptor and its binding mechanism with 1- α ,25-dihydroxyvitamin D. Proteins 44: 188-199).....	11
Abb. 6: Graphische Darstellung der Breslow-Tumordicke und des Clark Levels mit den entsprechenden 10-Jahres-Überlebensraten beim Malignen Melanom (Quelle: Med-Art: http://med-ars.it).....	36
Abb. 7: Schematische Darstellung der Multistritt-Karzinogenese beim MM (nach Hildebrand T (2000): Identifikation und Charakterisierung von Tumor-Progressions-Genen in einem Melanom Modellsystem. Dissertation: 13).....	40
Abb. 8: Eindringtiefe von UV-Strahlen in die Haut (Quelle: Deutsche Krebshilfe e.V., 2007).....	41
Abb. 9: Einverständniserklärung zur Studienteilnahme.....	51
Abb. 10: Erklärung der Boxplot-Darstellungen (Quelle: http://www.isl.uni-karlsruhe.de/module/delphi/boxplot.jpg).....	55
Abb. 11: Gesamtverteilung der Messwerte (25(OH)D-Serumspiegel).....	77
Abb. 12: 25(OH)D-Serumspiegel Melanome versus Kontrollgruppe.....	78
Abb. 13: 25(OH)D-Serumkonzentrationen der Melanom-Patienten eingeteilt nach Tumorstadien.....	70
Abb. 14: 25(OH)D-Serumkonzentrationen der Melanom-Patienten eingeteilt nach Tumorstadien.....	70
Abb. 15: Korrelation zwischen 25(OH)D-Serumspiegel und Tumordicke.....	71
Abb. 16: Korrelation zwischen 25(OH)D-Serumspiegel und Tumordicke.....	72
Abb. 17: 25(OH)D-Serumspiegel nach Tumordicke (≤ 1 mm versus > 1 mm).....	73
Abb. 18: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Lymphknotenmetastasierung in Monaten nach Vitamin D-Gruppen.....	75
Abb. 19: Zeit zwischen Exzision des Primarius und Fernmetastasierung in Monaten nach Vitamin D-Gruppen.....	76
Abb. 20: Zeit zwischen Primärexzision und Lymphknotenmetastasierung in Monaten nach Jahreszeit der Erstdiagnose.....	78

Abb. 21: Zeit zwischen Primärexzision und Fernmetastasierung in Monaten nach Jahreszeit der Erstdiagnose.....	78
Abb. 22: Tumordicke nach Jahreszeit der Erstdiagnose.....	79
Abb. 23: 25(OH)D Serumspiegel nach Jahreszeit der Blutentnahme.....	80
Abb. 24: 25(OH)D Serumspiegel nach Monat der Blutentnahme.....	81
Abb. 25: Altersverteilung im Gesamtkollektiv.....	82
Abb. 26: 25(OH)D-Serumwerte nach Altersgruppen, Melanom-Patienten Versus Kontrollgruppe.....	83
Abb. 27: 25(OH)D-Serumwerte der Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe nach Geschlecht.....	85
Abb. 28: Häufigkeiten der BMI-Gruppen gesamt.....	86
Abb. 29: 25(OH)D-Serumspiegel nach BMI-Gruppen gesamt.....	86
Abb. 30: 25(OH)D-Serumspiegel nach BMI-Gruppen gesamt.....	87
Abb. 31: 25(OH)D-Serumkonzentrationen nach BMI-Gruppen, nur Melanome.....	88
Abb. 32: Verteilung nach Hauttyp gesamt.....	89
Abb. 33: Korrelation zwischen Hauttyp und 25(OH)D-Serumspiegel gesamt.....	90
Abb. 34: Korrelation zwischen Hauttyp nach Fitzpatrick und 25(OH)D-Serumspiegel bei Melanom-Patienten versus Kontrollgruppe.....	91
Abb. 35: Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände gesamt.....	92
Abb. 36: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel gesamt.....	93
Abb. 37: Korrelation zwischen der Anzahl schmerzhafter Sonnenbrände und dem 25(OH)D-Serumspiegel Melanome versus Kontrollgruppe.....	94
Abb. 38: Gebrauch von Sonnenschutzprodukten im Gesamtkollektiv.....	95
Abb. 39: Korrelation zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel gesamt.....	96
Abb. 40: Korrelation zwischen dem Gebrauch von Sonnenschutzprodukten und dem 25(OH)D-Serumspiegel, Melanome versus Kontrollgruppe.....	97
Abb. 41: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre gesamt.....	98
Abb. 42: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre gesamt.....	98
Abb. 43: Sonnenexposition während der letzten 2 Jahre, Melanome Versus Kontrollgruppe.....	99

8. Abkürzungsverzeichnis

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxycholecalciferol, Calcitriol
7-DHC	7-Dehydrocholesterol
24,25(OH) ₂ D ₃	24,25-Dihydroxycholecalciferol
1,24,25(OH) ₃ D ₃	1,24,25-Trihydroxycholecalciferol
25(OH)D ₃	25-Hydroxycholecalciferol, 25-Hydroxyvitamin D, Calcidiol
ALM	Akral-lentiginöses Melanom
BMI	Body mass index
CD	Cluster of differentiation
CYP24	24-Hydroxylase
CYP27A1	25-Hydroxylase
CYP27B1	1 α -Hydroxylase
EBP	Enhancer-binding proteins
EGFR	Epidermal growth factor
FAMMM	Familiar atypical multiple mole melanoma syndrome
IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin
INF- α	Interferon- α
LMM	Lentigo-maligna Melanom
MHC	Major Histocompatibility Complex
MT	Metallothionein
NM	Noduläres Melanom
PTH	Parathormon
PTHrP	Parathormon-related protein
RXR	Rezeptor der Retinsäure-Rezeptor-Unterfamilie
SSM	Superfiziell spreitendes Melanom
TGF α	Tumor growth factor
TGF β ₂	Transforming growth factor β ₂
UCM	Unklassifizierbares Melanom
UV	Ultraviolette Strahlung
VDR	Vitamin D-Rezeptor
WLKB	Wächterlymphknotenbiopsie

9. Danksagung

Herrn Professor Jörg Reichrath danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die vorzügliche Betreuung über den gesamten Zeitraum der Arbeit. Seine Unterstützung sowohl in den organisatorischen und inhaltlichen Belangen von der Studienplanung über die Durchführung bis zur Auswertung und Diskussion der Arbeit waren unverzichtbar. Seine kontinuierliche Betreuung, herausragenden Motivationskünste und Kritik waren mir eine große Hilfe und trugen wesentlich zum Gelingen der Studie bei.

Herrn Professor Tilgen danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit an seiner Klinik durchführen zu können und für das Verständnis, die Unterstützung und das Vertrauen in dieser Zeit.

Herrn Dr. Markus Seifert und allen Mitarbeitern, v.a. Frau Alexandra Stark, danke ich für die Unterstützung und stets zuverlässige und schnelle Hilfe bei den Laborarbeiten sowie für die Integration in ihr Laborteam.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse bin ich Herrn PD Dr. med. Stefan Gräber (Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik) zu Dank verpflichtet.

Herrn Gerd Pape danke ich für die Bestimmung der 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel und Herrn Professor Dr. Wolfgang Herrmann für die freundliche Erlaubnis, diese Untersuchungen in seinem Labor durchführen zu dürfen.

Herrn Professor Dr. Dirk Schadendorf, Frau Professor Dr. Barbara Gärtner und Frau Dr. Claudia Pföhler gebührt für die Zurverfügungstellung von Serumproben ein ganz besonderer Dank.

Ebenso bin ich Herrn Pit Sertznig, Malte Kladiwa, Florian Schmitz, Dr. med. Andre Shafia und Dr. med. Martin Lorenz für die Hilfe bei EDV-Problemen und für die moralische Unterstützung während der gesamten Promotionszeit zu großem Dank verpflichtet.

Schließlich danke ich den Probanden für ihre geduldige Bereitschaft, den Schwestern und Pflegern der Universitätshautklinik Homburg für ihre große Mithilfe und insbesondere Frau Sachs für ihre freundliche Einführung in die Archivarbeit.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Carsten Arntz, der mir mit seinen EDV-Kenntnissen über so manche Klippen hinweggeholfen hat und durch seine Motivation und Hilfe großen Anteil am Erfolg dieser Arbeit hat.

Meinen lieben Eltern, die mich mein gesamtes Studium durch Höhen und Tiefen begleitet haben, danke ich für ihre liebevolle Unterstützung.

Schließlich möchte ich in besonderer Weise meiner lieben Frau Ute danken. Nicht nur für die Hilfe bei EDV-Problemen und bei der Durchsicht meiner Promotion, sondern auch für die permanente, liebevolle Unterstützung. Die Aussicht auf eine gemeinsame Zukunft in der Schweiz hat mich getragen, inspiriert und immer wieder stark gemacht.

10. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Bernd Nürnberg
Geburtsdatum /-ort: 22.02.1974, Bonn
Adresse: Volhardstraße 1
D-66424 Homburg/Saar
Tel./Fax: +49 (0)6841 9935981
Mobil: +49 (0)176 65809638
E-Mail: berndnuernberg@gmx.de
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: deutsch

Berufstätigkeit

8/2003 - 9/2004 Wissenschaftlicher Assistent an der Universität Osnabrück,
Abteilung für Dermatologie

2/2005 - 1/200 Assistenzarzt an der Universitätshautklinik Homburg/Saar

Seit 2/2007 Promotion an der Universitätshautklinik Homburg über das
Thema: Bedeutung des 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegels
für Pathogenese und Progress des malignen *Melanoms*
(Prof. Dr. J. Reichrath)

Hochschulbildung

10/1995 Immatrikulation für das Studium der Humanmedizin an der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

03/1999 **Ärztliche Vorprüfung**

04/1999 Fortsetzung des Hochschulstudiums an der Johannes-
Gutenberg-Universität Mainz

03/2000 **Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (1. Staatsexamen)**

04/2002 **Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (2. Staatsexamen)**

5/2003-04/2004 Praktisches Jahr (PJ) am Klinikum der Stadt Ludwigshafen a.Rh.,
Wahlfach Dermatologie

04/2004 **Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (3. Staatsexamen)**

Studienbegleitende Nebentätigkeiten

1995 – 1996	Studentische Aushilfstätigkeit im Bereich Krankenpflege am Malteser-Krankenhaus Bonn, Nacht- und Wochenenddienste
1998 – 2001	Studentische Aushilfstätigkeit in der radiologischen Gemeinschafts- praxis Dres. med. K. Frank, U. Trost und H. v. Zitzewitz, Wiesbaden (u.a. Planung und Durchführung von MRT und CT)

Zusatzkurse mit Leistungsnachweis

Sommersemester 1998	Teilnahme am Kursus „Information Handling in Medicine and Science“, Universitätsklinik Bonn
Wintersemester 1999	Tropenmedizinseminar, Universitätsklinik Mainz
Wintersemester 1999	Teilnahme an der Lehrveranstaltung „English for Medicine“, Universitätsklinik Mainz
Wintersemester 2001	Impfkurs, Universitätsklinik Mainz
06/2005	Kursus: Sonographie der Haut, Subcutis und subcutaner Lymphknoten, Grundkurs
01/2006	Kursus: Sonographie der Haut, Subcutis und subcutaner Lymphknoten, Abschlußkurs mit Erhalt der Zertifizierungs-urkunde

Schulbildung

1980 – 1984	Grundschule Bonn-Röttgen
1984 – 1994	Carl-von-Ossietzky-Gymnasium Bonn
1994	Abitur (Allgemeine Hochschulreife)

Zivildienst

1994 – 1995	Malteser Krankenhaus Bonn (Urologie, Handchirurgie)
-------------	---

Sonstige Kenntnisse / Interessen

Sprachen	Englisch – fließend in Wort und Schrift Französisch – Grundkenntnisse
EDV	Fundierte PC-Kenntnisse, (u.a. MS Office Professional, SAP-Anwendungen, SPSS)
Interessen	Sport (Hockey, Tennis), Musik (Klavierspielen, Chor), Geschichte, Kunst